

银腺杨大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育的研究

魏俊杰¹, 崔彬彬¹, 张妍¹, 孙宇涵²

(1. 保定学院生化系, 保定 071000;

2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:【目的】对银腺杨大孢子母细胞减数分裂和胚囊的发育进程进行研究, 为确定染色体加倍的有效处理时期提供细胞学参考, 以期提高雌配子染色体加倍途径选育三倍体的效率。

【方法】采用石蜡切片方法对银腺杨的大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育进程进行研究, 同步观察雌花芽的外部形态。【结果】银腺杨大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育进程与花芽的外部形态存在着一定的相关性, 花序微露时, 大孢子母细胞进入减数分裂细线期; 1/2 伸出芽鳞, 发育到减数分裂中期 I; 花序全部露出, 长约 1.55cm 左右时, 进入减数分裂四分体时期。授粉前 12 小时, 功能大孢子进入胚囊发育时期, 雌蕊柱头开裂角度约 180° 时, 发育到单核胚囊; 授粉后 24 小时, 柱头褐色, 发育到二核胚囊; 授粉后 36 小时, 柱头开始萎蔫, 发育到四核胚囊; 授粉后 60 小时, 柱头干枯, 发育到八核胚囊。【结论】可根据雌花芽外部形态来判断大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育时期, 适时进行染色体的加倍处理; 同时, 银腺杨大孢子母细胞减数分裂和胚囊发育进程呈现出明显的不同步性, 同一个花芽的不同小花, 同一小花的不同胚珠间均存在着明显的发育差异, 对种群进化有重要意义。

关键词: 银腺杨; 大孢子母细胞; 减数分裂; 胚囊发育

中图分类号: S722.3

Stages of MMC Meiosis and Corresponding The Study of megaspore mother cell meiosis and embryo sac development in *Populus alba* × *P. glandulosa*

WEI Junjie¹, CUI Binbin¹, ZHANG Yan¹, SUN Yuhan²

(1. Department of Biology and Chemistry, Baoding University, Baoding 071000;

2. College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: 【Objective】In order to provide the cytological reference for chromosome doubling treatment, and improve the efficiency of triploid breeding by female gametes chromosome doubling, the megaspore mother cells and embryo sac development process of *Populus alba* × *P. glandulosa* were studied. 【Method】The meiosis stages of megasporocytes and the development of embryo sacs of *Populus alba* × *P. glandulosa* were studied by paraffin section method, and the flower bud morphology was observed simultaneously. 【Result】The megaspore mother cell meiosis and embryo sac development are related to flower bud morphology. When a little catkin appeared, the meiosis of megaspore mother cells just entered leptotene; When the meiosis of megasporocytes entered metaphase I, 1/2 catkin stucked out; When all the catkin stucked out, and about 1.55 cm long, the meiosis of megasporocytes entered tetrad period. 12 hours before pollination, functional megaspore entered embryo sac development period. When the cracking angle of stigma was about 180°, the embryo sac entered uni-uncleate period; 24 hours after pollination, stigma was brown and the embryo sac entered two uncleate period; 36 hours after pollination, stigma began wilting and the embryo sac entered four uncleate period; 60 hours after pollination, stigma was withered and the embryo sac entered eight uncleate period. 【Conclusion】The flower bud morphology could be used to judge the megaspore mother cell meiosis and embryo sac development period, thus they could be treated by chromosome doubling technique timely. Meanwhile, meiosis stages of megaspore mother cells and the development of embryo sacs presented obvious asynchronism. There were distinct development diversities in different florets

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20110014110005); 河北省自然科学基金资助项目 (C2013104053); 国家自然科学基金资助项目 (31300562); 保定学院科研团队 (KYTD2013001)

作者简介: 魏俊杰 (1974-), 女, 副教授, 主要从事林木遗传育种研究. E-mail: junjiwei@126.com

of the same inflorescence and different ovules in the same floret. Besides, it has an important significance for population evolution.

50 **Key words:** *Populus alba* × *P. glandulosa*; Megaspore mother cell; Meiosis; Development of embryo sac

0 引言

银腺杨 (*Populus alba* × *P. glandulosa*) 是白杨的一种, 生长快, 树干通直挺拔, 是造林绿化的树种, 广泛用于城乡绿化, 其品种适应性强, 主根和侧根发达, 枝繁叶茂, 是我国的速生树种之一, 具有很好的生态和经济价值。三倍体杨树具有速生、巨大的特性, 可以获取更高的木材产量^[1-2], 同时三倍体育种综合了杂种优势和倍性优势, 可以通过一轮次育种过程实现林木的综合性状遗传改良^[3], 因此, 人工创造三倍体逐渐成为现代林木育种工作的重要手段, 可以通过理化处理诱导 2n 花粉或 2n 雌配子的方式人工选育三倍体新品种^[4]。诱导 2n 花粉的途径, 由于加倍花粉在受精过程中竞争能力差^[5], 导致这种方式三倍体获得率是比较低的^[6]。而通过诱导大孢子染色体加倍和胚囊染色体加倍形成的 2n 雌配子, 不存在单倍性配子的竞争问题, 越来越受到育种者的青睐。李艳华等^[7]诱导银腺杨大孢子染色体加倍, 以毛白杨为父本授粉后, 三倍体得率最高达 16.7%; 王君等^[8]以秋水仙碱处理处理诱导青杨胚囊染色体加倍, 最高三倍体得率为 66.7%。显然, 诱导杨树大孢子和胚囊染色体加倍是有效的多倍体诱导途径。染色体加倍技术的关键是对处理时期的把握, 因此对大孢子减数分裂和胚囊发育进程的判断尤为重要, 这就需要对其进行细胞学观察。在利用诱导花粉染色体加倍选育白杨三倍体的研究中, 康向阳等 (1999) 证明了白杨花粉染色体加倍的有效处理时期为减数分裂粗线期^[9], 将细胞学技术与染色体加倍技术结合起来。而在杨属植物中, 小孢子母细胞减数分裂进程及其遗传变异方面的细胞学研究较多^[10-13], 由于大孢子母细胞及胚囊包裹于胚珠之中, 其发育过程的细胞学研究相对较少, 发育时期也难以即时判别, 因此限制了 2n 雌配子诱导及其在育种中的应用。李艳华等^[7]的研究证明银腺杨的大、小孢子母细胞减数分裂进程存在对应关系, 而将银腺杨大孢子母细胞减数分裂和胚囊发育的整个细胞学过程与其花芽发育的外部形态联系起来的研究尚未见报道。为此本研究以银腺杨为材料, 采用石蜡切片方法, 对大孢子母细胞减数分裂和胚囊的发育进程进行了研究, 同步观察雌花芽的外部形态, 为确定染色体加倍的有效处理时期提供细胞学参考和技术支持, 以期提高雌配子染色体加倍途径选育三倍体的效率。

1 材料与方法

1.1 材料

银腺杨 (*Populus alba* × *P. glandulosa*) 雌花枝采集于国家重点林木良种基地山东冠县苗圃。2014 年 1 月采集花芽饱满、无病虫害的健壮花枝, 用塑料薄膜包裹严密, 运至河北大学温室, 避风低温保存以备用。

1.2 方法

将银腺杨的雌花枝在河北大学的温室内进行切枝水培, 温度保持在 10-25℃, 授粉前当花枝水培 48h 后, 每隔 3 小时采集 2-3 个花芽, 去除鳞片, 用 FAA 固定液[V (70%乙醇):V (乙酸):V (38%甲醛)=90:5:5]固定, 4℃低温保存。

收集银腺杨花粉, 当银腺杨雌花序处于最佳授粉时期时对其授粉。授粉后每隔 6 h 用

FAA 固定液固定雌花芽 2-3 个, 授粉 5 天后每 12 h 固定 1 次, 直至授粉后第 6 天。固定后的雌花芽 4℃低温保存备用。每次进行雌花芽固定时均记录下被固定花芽的外部形态特征, 用游标卡尺测量其花芽长度, 同时对新鲜材料做解剖, 观察柱头的发育情况, 采用 LeicaEZ4HD 体式显微镜观察并照相。

大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育进程的观察采用石蜡切片法, FAA 固定液固定的雌花芽, 经过逐级酒精脱水, 二甲苯透明, 采用石蜡包埋、切片, 切片厚度为 8 μ m, 铁矾苏木精染色, 苦味酸饱和液分色, 所有制片均用 Olympus BX51 型显微镜观察并照相。

2 结果与分析

2.1 银腺杨大孢子母细胞减数分裂进程

在温室水培条件下, 银腺杨水培 210 小时后开始进入减数分裂, 共历时 105 小时, 银腺杨大孢子母细胞减数分裂进程与花芽的发育存在一定的相关性(如表 1), 随着雌花芽逐渐膨大, 伸长, 直到花序完全露出芽鳞, 大孢子母细胞从减数分裂的细线期发育到四分体。当银腺杨在温室水培 8 天左右时, 雌花芽开始膨大(图 1-A), 柱头透明(图 1-B), 此时从子房纵切面观察, 珠心与珠被约呈 45°夹角, 可以看到珠心表皮下的孢原细胞体积增大发育为大孢子母细胞。

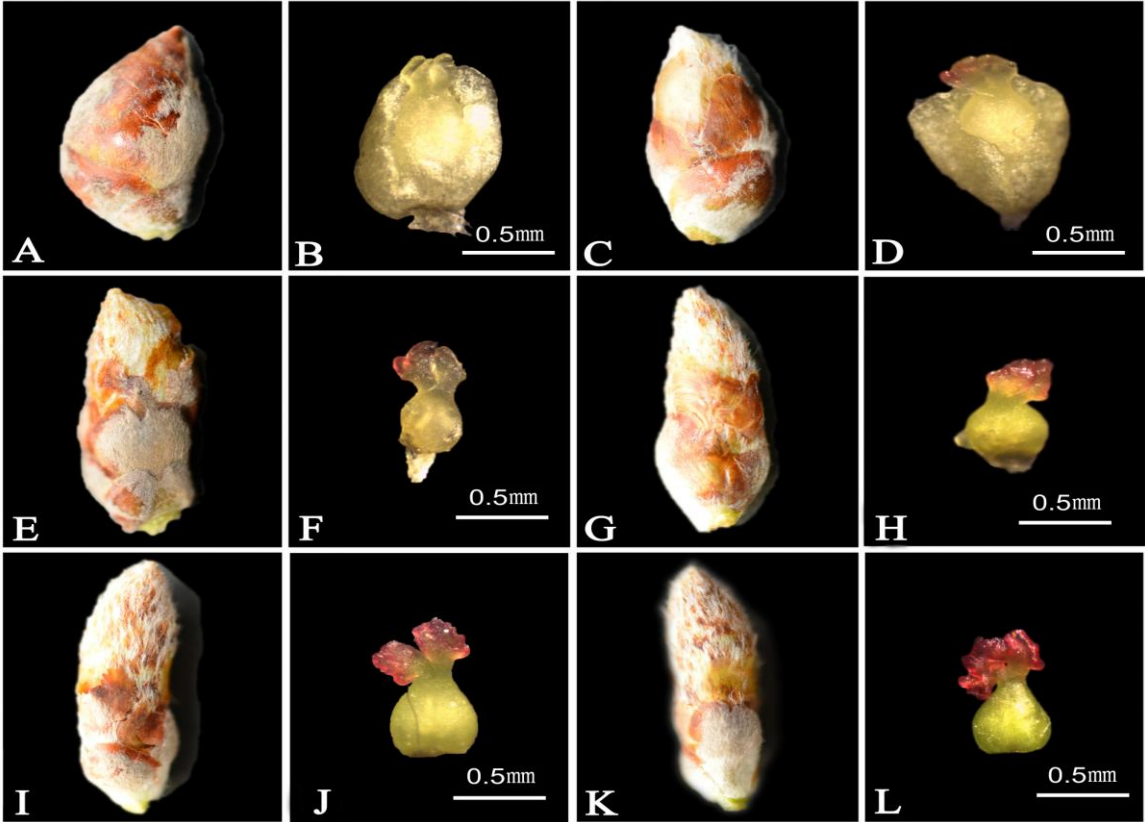
水培 210h, 雌花芽长约 0.76cm, 花序微露(图 1-C), 柱头黄色(图 1-D), 银腺杨大孢子母细胞开始进入减数分裂前期 I 的细线期(图 2-A), 细胞核仁明显, 核内出现细长如线的染色体。雌花枝水培 222 小时, 花芽长约 0.84cm, 约 1/5 雌花序露出芽鳞, 子房比细线期稍大, 减数分裂进入细线末期(图 2-B), 此时染色体在细胞核内发生极化, 集中于核仁一侧呈花束状。当雌花枝水培 234 小时, 花芽长约 0.96cm, 约 1/4 花序露出芽鳞(图 1-E), 柱头稍显红色(图 1-F), 大孢子母细胞减数分裂进入粗线期(图 2-C), 此时同源染色体联会, 染色体缩短加粗, 形态明显。当雌花芽水培 240 小时, 雌花芽外形变化不大, 此时染色体进一步缩短变粗, 联会的二价体因非姊妹染色单体相互排斥而松解, 但仍有几个交叉联结在一起, 大孢子母细胞减数分裂进入双线期(图 2-D)。雌花枝水培 245h 时, 花芽长约 1.14cm, 约 1/3 花序露出芽鳞(图 1-G), 柱头微红(图 1-H), 多数大孢子母细胞减数分裂进入终变期(图 2-E), 染色体变得更为浓缩和粗短, 分散在整个核内。

水培 258 小时, 花芽长约 1.20cm, 约 1/2 花序露出芽鳞(图 1-I), 柱头伸长, 开始分叉(图 1-J), 大部分大孢子母细胞减数分裂发育到中期 I(图 2-F), 此时核仁消失, 配对的同源染色体分布排列在赤道板中央, 具有典型的细胞分裂相, 容易识别。水培 270 小时, 花芽长约 1.23cm, 约 2/3 花序露出芽鳞(图 1-K), 柱头呈红色(图 1-L), 大孢子母细胞进入减数分裂后期 I(图 2-G), 配对的同源染色体在纺锤丝的牵引下移向细胞两极, 同源染色体分离, 随后形成二分体, 完成第一次减数分裂。水培 285 小时, 花芽长约 1.52cm, 花序已全部露出(图 1-M), 柱头四叉明显, 开裂角度小于 30°(图 1-N), 大孢子母细胞进入减数分裂中期 II(图 2-H)。继续水培至 315 小时, 花芽长约 1.55cm, 花序完全露出, 柱头伸出, 开裂角度约 60°(图 1-O), 大孢子母细胞进入减数分裂四分体时期(图 2-I)。

表 1 大孢子母细胞减数分裂进程及雌花芽形态特征
Table 1 Process of megaspore mother cell meiosis and female flower buds phenology of *Populus alba* × *P. glandulosa*.

水培时间/h Culture time/h	减数分裂时期 Meiosis period	花芽长度/cm Length of flower bud/cm	花序特征 Inflorescence character
201	大孢子母细胞 Megaspore mother cell		花芽膨大 Flower bud swelling
210	细线期 Leptotene	0.76±0.03	花序微露 Appearance of little catkin
222	细线期、细线末期 Leptotene, Late leptotene	0.84±0.05	1/5 伸出芽鳞 1/5 of catkin sticking out
234	细线末期、粗线期 Late leptotene, Pachytene	0.96±0.09	1/4 伸出芽鳞 1/4 of catkin sticking out
240	粗线期、双线期 Pachytene, Diplotene	0.96±0.09	1/4 伸出芽鳞 1/4 of catkin sticking out
245	粗线期、终变期、中期I Pachytene, Diakinesis, Metaphase I	1.14±0.12	1/3 伸出芽鳞，柱头微红 1/3 of catkin sticking out
258	终变期、中期I Diakinesis, Metaphase I	1.20±0.14	1/2 伸出芽鳞，柱头红色，开始分叉 1/2 of catkin sticking out; Stigma is red and begin to split.
270	终变期、中期I、后期I Diakinesis, Metaphase I, Anaphase I	1.23±0.27	2/3 伸出芽鳞，柱头红色 2/3 of catkin sticking out; Stigma is red.
285	后期I、二分体、中期II Anaphase I, Dyad, Metaphase II	1.52±0.33	花序完全露出，柱头四叉明显，开裂角度小于 30° All of catkin sticking out; Four branches of the stigma are obvious and its cracking angle is less than 30°.
315	四分体 Tetrad	1.55±0.42	花序完全露出，柱头伸出，开裂角度约 60° All of catkin sticking out; Stigma sticks out and its cracking angle is about 60°.

130



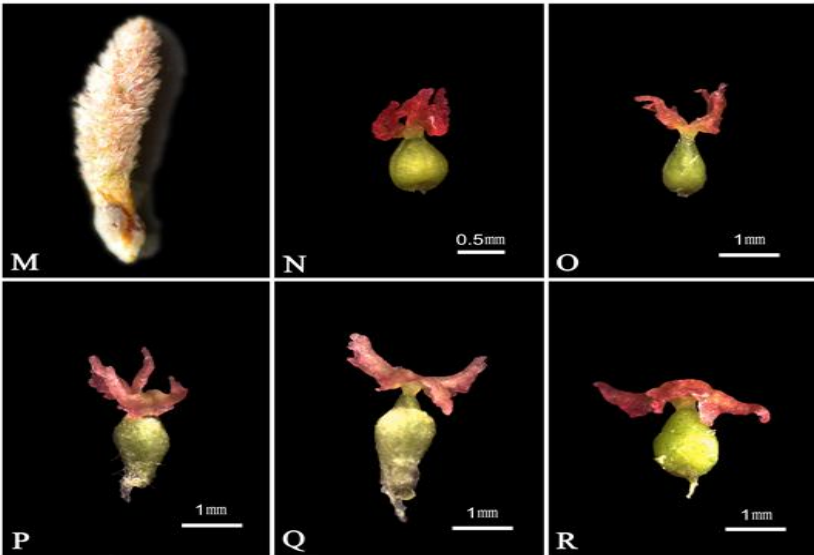


图 1 银腺杨雌花芽及其柱头发育进程

Fig.1 Female flower bud and its stigma development of *Populus alba* × *P. glandulosa*.

A, B. 膨大的雌花芽及其柱头; C, D. 花序微露的雌花芽及其柱头; E, F. 1/4 花序露出芽鳞的雌花芽及其柱头; G, H. 1/3 花序露出芽鳞的雌花芽及其柱头; I, J. 1/2 花序露出芽鳞的雌花芽及其柱头; K, L. 2/3 花序露出芽鳞的雌花芽及其柱头; M. 花序全部露出芽鳞的雌花芽; N. 开裂角度小于 30° 的柱头; O. 开裂角度约 60° 的柱头; P. 开裂角度约 90° 的柱头; Q. 开裂角度约 120° 的柱头; R. 开裂角度约 180° 的柱头

A,B. inflated female flower bud and its stigma; C,D. Female flower bud with a little catkin out and its stigma; E,F. Female flower bud with 1/4 of the catkin out and its stigma; G,H. Female flower bud with 1/3 of the catkin out and its stigma; I,J. Female flower bud with 1/2 of the catkin out and its stigma; K,L. Female flower bud with 2/3 of the catkin out and its stigma; M. Female flower bud with all of catkin out; N. stigma its cracking angle less than 30 degrees; O. stigma its cracking angle about 60 degrees; P. stigma its cracking angle about 90 degrees; Q. stigma its cracking angle about 120 degrees; R. stigma its cracking angle about 180 degrees

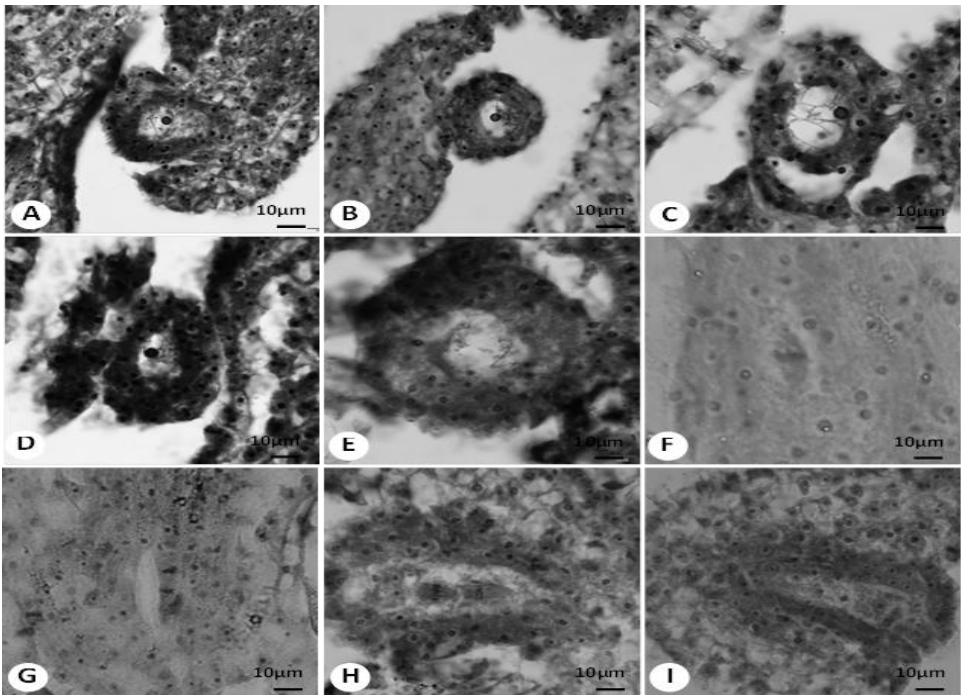


图 2 银腺杨大孢子母细胞减数分裂进程

Fig. 2 Megaspore mother cell meiosis of *Populus alba* × *P. glandulosa*.

A. 细线期; B. 细线末期; C. 粗线期; D. 双线期; E. 终变期; F. 中期 I; G. 后期 I; H. 中期 II; I. 四分体

A. leptotene; B. Late leptotene; C. Pachytene; D. Diplotene; E. Diakinesis; F. Metaphase I; G. Anaphase I; H. Metaphase II; I. Tetrad

2.2 银腺杨胚囊发育进程

通过石蜡切片观察发现，银腺杨胚囊发育过程历时 3-4 天，大孢子母细胞减数分裂进入四分体以后，珠孔端的 3 个大孢子退化，合点端的大孢子继续发育，形成功能大孢子（图 3-A），功能大孢子经过三次有丝分裂形成成熟胚囊，成熟胚囊由位于合点端的 3 个反足细胞，珠孔端的 2 个助细胞，1 个卵细胞及 1 个中央细胞组成，属于廖型胚囊发育模式。在胚囊发育过程中，雌花序的外部形态也在不断发生着变化（如表 2），从花序完全露出芽鳞，柱头红色，四叉完全张开到花粉可授期，授粉后花序不断伸长，柱头逐渐萎蔫、干枯，随着胚囊发育进程的完成，子房变得膨大饱满。

授粉前 12 小时左右，雌花序完全露出芽鳞，柱头红色，明显分叉，开裂角度约 90°（图 1-P），功能大孢子进入胚囊发育过程。继续水培 12 小时，雌蕊柱头的开裂角度不断变大（图 1-Q），至开裂角度约 180°（图 1-R），四叉完全张开，到可授期，体积逐渐增大，细胞核位于中央，形成少量单核胚囊（图 3-B）。授粉后 12 小时，雌花序外部形态变化不大，单核胚囊继续发育生长，经过 1 次有丝分裂，形成二核胚囊，可以观察到 2 个核处于中央（图 3-C）。授粉后 24 小时，雌蕊柱头发暗变为褐色，2 个核分别移向胚囊的两端（图 3-D）。

授粉后 36 小时，雌花序小花之间的距离稍拉开，花序变得松散，柱头开始萎蔫，二核胚囊位于珠孔端和合点端的 2 个细胞核进行第二次有丝分裂，形成四核胚囊（图 3-E），两端各两个细胞核。授粉后 48 小时，雌花序进一步伸长，柱头萎蔫，四核胚囊占多数，少量发育快的四核胚囊进行第三次有丝分裂，形成八核胚囊（图 3-F）。授粉后 60 小时，雌花序进一步伸长，柱头干枯，此时可看到大量的 7 细胞结构的八核胚囊。授粉后 72 小时，雌花序继续伸长，子房膨大，胚囊逐渐发育成熟。授粉后 120 小时，子房饱满，成熟胚囊已完成双受精，胚囊发育到胚和游离胚乳核时期。

表 2 银腺杨胚囊发育进程及雌花序形态特征

Table 2 Process of embryo sac development and female flower catkins phenology of *Populus alba* × *P. glandulosa*.

授粉后时间/h After pollination time/h	发育时期 Development period	花序特征 Inflorescence character
-12	四分体至单核胚囊 Tetrad to uni-uncleate embryo sac	花序完全露出，柱头红色，明显分叉，开裂角度约 90° All of catkin sticking out; The stigma is red and its branches are obvious, and its cracking angle is about 90 °
0	四分体至二核胚囊 Tetrad to two-uncleate embryo sac	花序完全露出，柱头四叉完全张开，开裂角度约 180°，到可授期 All of catkin sticking out; Four branches of the stigma are open completely and its cracking angle is about 180 °and it's pollination time.
12	单核胚囊至二核胚囊 Uni-uncleate to two-uncleate embryo sac	花序变化不大，柱头红色 Catkin has few changes and the stigma is red.
24	单核胚囊至四核胚囊 Uni-uncleate to four-uncleate embryo sac	花序变化不大，柱头褐色 Catkin has few changes and the stigma is brown.
36	单核胚囊至八核胚囊 Uni-uncleate to eight-uncleate embryo sac	花序开始松散，柱头开始萎蔫 The catkin become to be incompact and the stigmas begin to wilting.
48	二核胚囊至八核胚囊 Two-uncleate to eight-uncleate embryo sac	花序伸长，柱头萎蔫 Catkin elongating; Stigma wilting
60	四核期至成熟胚囊 Four-uncleate to eight-uncleate embryo sac	花序伸长，柱头干枯 Catkin elongating; Stigma sear
72	成熟胚囊 Mature embryo sac	花序伸长，子房膨大 Catkin elongating; Ovary swelling
120	胚与游离胚乳核时期 Embryo and free endosperm nuclear period	子房饱满 Plump ovary

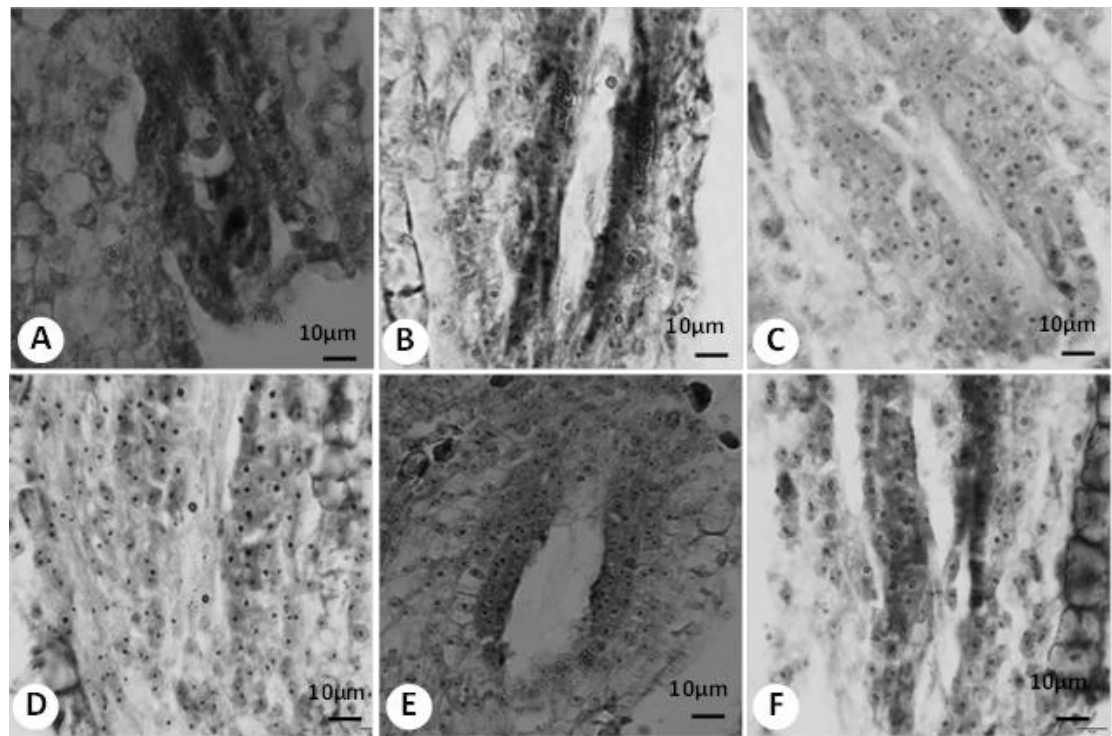


图 3 银腺杨胚囊发育进程

Fig.3 Embryo sac development of *Populus alba* × *P. glandulosa*.

A. 功能大孢子; B. 单核胚囊; C, D 二核胚囊; E. 四核胚囊; F. 八核胚囊
A. Functional megaspore; B. Uni-uncleate embryo sac; C,D. Two-uncleate embryo sac; E. Four-uncleate embryo sac; F. Eight-uncleate embryo sac

3 讨论与结论

在番茄、彩色马蹄莲等植物的细胞学研究中,将雌花芽的形态特征运用到其大孢子发育进程的判别^[14-15]。本研究发现银腺杨大孢子母细胞减数分裂和胚囊发育进程与花芽的外部形态存在着一定的相关性,花序微露时,大孢子母细胞进入减数分裂细线期;1/4 花序露出芽鳞时,减数分裂进入粗线期;1/3 露出芽鳞时,发育到减数分裂终变期;1/2 伸出芽鳞,发育到减数分裂中期 I;2/3 伸出芽鳞时,进入减数分裂后期 I;花序全部露出,长约 1.55cm 左右时,进入减数分裂四分体时期。授粉前 12 小时,功能大孢子进入胚囊发育时期,雌蕊柱头开裂角度约 180°时,发育到单核胚囊;授粉后 24 小时,柱头褐色,发育到二核胚囊;授粉后 36 小时,柱头开始萎蔫,发育到四核胚囊;授粉后 60 小时,柱头干枯,发育到八核胚囊。由此可根据雌花芽外部形态来判断大孢子母细胞减数分裂及胚囊发育进程。

2n 雌配子受精后可 100%形成三倍体,具有很高的利用价值,但 2 n 大孢子诱导处理时机较难把握。李艳华^[16]候延侠^[17]等根据雌雄配子发生、发育的时序性对应关系,以小孢子母细胞减数分裂进程为参照,即时判别大孢子母细胞的减数分裂时期,而大、小孢子母细胞的减数分裂进程会随气候、温度等的变化有所差异。从银腺杨大孢子母细胞减数分裂及胚囊的发育与花芽外部形态的相关性看,依据雌花芽的外部形态特征,能够判别大孢子母细胞减数分裂和胚囊发育时期,适时进行染色体加倍处理,不需要以小孢子母细胞减数分裂进程为参照,实现了雌配子体发育时期的判别,并且花芽的外部形态特征受环境、气候影响较小,因此是一种简单、实用的技术方法。

银腺杨大孢子母细胞减数分裂进程呈现出明显的不同步性,这与李艳华^[16]的研究结果是一致的。同一个花枝的不同花芽间,同一个花芽的不同小花,甚至同一小花的不同胚珠间均存在着明显的发育差异,因此水培时间相同的情况下可以观察到减数分裂的不同时期,如水培至 270 小时,发育快的大孢子母细胞进入减数分裂的后期 I,发育慢的尚处于终变期。胚囊的发育也同样存在不同步性,如授粉后 60 小时,发育快的已到成熟胚囊,发育慢的为四核胚囊时期,在白杨派其他树种如河北杨和青杨派树种中也有相似的情况^[18-19],显示了种群变异的多样性和丰富性,对种群进化有重要意义。因此在对大孢子和胚囊进行大批量的同期加倍处理时,取材部位应尽量一致,以保证花芽发育的大体一致性。

[参考文献] (References)

- [1] 康向阳.毛白杨细胞遗传与三倍体选育[M].北京:中国环境科学出版社,2002.
- [2] 康向阳,朱之悌,张志毅.银腺杨与毛新杨正反交三倍体选育[J].北京林业大学学报,2000,22(6):8-11.
- [3] Weisgerber H,Rau H M,Gartner E J,et al. 25 years of forest tree breeding in Hessen[J].Allgemeing-forstzeitschrift,1980.665-672.
- [4] 康向阳,张平冬,高鹏,等.秋水仙碱诱导白杨三倍体新途径的发现[J].北京林业大学学报,2004,26(1): 18-21.
- [5] 康向阳,朱之悌.白杨 2n 花粉生命力测定方法及萌发特征的研究[J].云南植物研究,1997,19(4):402-406.
- [6] 康向阳,朱之悌,林惠斌.白杨不同倍性花粉的辐射敏感性及其应用[J].遗传学报,2000, 27(1):78-82.
- [7] 李艳华,康向阳.诱导大孢子染色体加倍选育白杨杂种三倍体[J].北京林业大学学报,2007,29(5):22-25.
- [8] 王 君,康向阳,李代丽等.授粉后施加秋水仙碱处理诱导青杨派异源三倍体[J].北京林业大学学报,2007, 29(5): 18-21.
- [9] 康向阳,朱之悌,林惠斌.杨树花粉染色体加倍有效处理时间的研究[J].林业科学,1999, 3(54): 21-24.
- [10] Posinia K. Meiosis and the distribution of chromosomes in tetraploid aspen[J].Genetika Slechteni,1978,14(4):241--249.
- [11] 刘玉喜,张方,陆志华.中东杨小孢子的发生[J].东北林学院学报,1979,7(2):1-4.
- [12] 董源.毛白杨胚胎学观察- I 花药的结构及花粉的发育[J].北京林学院学报,1982,(2):80-88.
- [13] 王君,康向阳,李代丽,等.通辽杨花粉母细胞减数分裂及其染色体行为研究[J].西北植物学报,2006, 26(11):2231-2238.
- [14] Brukhin V,Hernould M,Gonzalez N,et al.Flower development schedule in tomato Lycopersicon esculentum cv.Sweet cherry[J].Sex Plant Reprod,2003,15:311-320.
- [15] 卫尊征,熊敏,欧先梅等.彩色马蹄莲大小孢子发生及雌雄配子体发育的研究[J].上海交通大学学报(农业科学版), 2015, 33(2):18-26.
- [16] 李艳华,马洁,康向阳.白杨大孢子母细胞减数分裂进程及其即时判别[J].北京林业大学学报,2005, 27(2): 70-74.
- [17] 候延侠,康向阳.响叶杨大、小孢子母细胞减数分裂进程及其对应关系[J].西北植物学报,2006, 26(1): 46-49.
- [18] 索玉静,王君,康向阳.河北杨胚囊发育的细胞学研究[J].中国农学通报,2012,28(16):46-49.
- [19] 王君,康向阳.小青杨大孢子发生、雌配子体发育及其系统学意义[C].见:中国林学会.第二届中国林业学术大会——S2 功能基因组时代的林木遗传与改良论文集,南宁,2009:614-620.