

# 胡杨小孢子母细胞减数分裂与花粉变异研究

陈欣, 杨倩, 张平冬\*, 康向阳

(北京林业大学 林木育种国家工程实验室 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083)

**摘要:**利用醋酸洋红染色法研究了胡杨小孢子母细胞减数分裂过程中花芽外部形态、花药颜色变化及其与减数分裂进程的关系, 染色体行为和花粉变异。结果表明, 小孢子母细胞减数分裂进程与花芽外部形态以及花药颜色密切相关; 减数分裂偶线期和中期Ⅰ可以看见单价体, 后期Ⅰ、末期Ⅰ以及后期Ⅱ均可见落后染色体; 减数分裂末期Ⅰ和末期Ⅱ核仁数目存在着动态变化, 这种现象可能与杨属植物古多倍性起源有关; 不同基因型间花粉粒直径的差异显著; 除基因型 HY17 和 HY31 之外, 其他基因型均可产生天然 2n 花粉, 其频率在 0.49%~4.37% 之间变化, 天然 2n 花粉的发生可能与后期Ⅱ纺锤体定位异常有关; 低频率的连体花粉广泛存在于不同基因型的胡杨花粉中, 这预示着胡杨小孢子发生过程中的胞质分裂存在异常。

**关键词:** 胡杨; 减数分裂; 染色体行为; 2n 花粉; 连体花粉

**中图分类号:** S792.11      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-7461(2015)02-0090-06

## Studies on Meiosis of Microspore Mother Cell and Variations of Pollen Grains in *Populus euphratica*

CHEN Xin, YANG Qian, ZHANG Ping-dong\*, KANG Xiang-yang

(National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Key Laboratory for Genetic and Breeding in Forest Trees  
and Ornamental Plants, Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Relationships between meiotic stage and shapes of flower bud and anther color, chromosome behavior during meiosis and variations of pollen grains were investigated by aceto-carmin squash technique in *Populus euphratica*. A high correlation between meiotic process of pollen mother cells and shape of flower bud and anther color was observed. Univalents were showed at both diplotene and metaphase Ⅰ, lagging chromosomes at anaphase Ⅰ, telophase Ⅰ and anaphase Ⅱ. The varied number of nucleoli was demonstrated at both telophase Ⅰ and telophase Ⅱ, suggesting that *Populus* maybe derive from ancient polyploid plants. However, genotypic differences in diameter of pollen grain were significant. All studied genotypes could produce natural 2n pollen except for genotype HY17 and HY31, and the frequency of 2n pollen varied from 0.49% to 4.37%, which was due to abnormal spindle orientation at metaphase Ⅱ. Additionally, all the studied genotypes could produce stuck pollen grains, suggesting that abnormal cytokinesis would be happened during microsporogenesis in *P. euphratica*.

**Key words:** *Populus euphratica*; meiosis; chromosome behavior; 2n pollen; stuck pollen

减数分裂是生物有性生殖的重要过程, 是遗传重组和物种进化的基础, 也是细胞遗传学和生殖生物学领域经久不衰的研究课题<sup>[1-2]</sup>。在植物界, 减数

分裂需经历染色体复制、同源染色体联会、染色体片段交换、同源染色体分离、姊妹染色体单体分离以及胞质分裂等一系列复杂的生物学现象, 并最终形

收稿日期: 2014-07-09    修回日期: 2014-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31370659)。

作者简介: 陈欣, 女, 学士, 研究方向: 林木细胞遗传学。

\* 通信作者: 张平冬, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 林木细胞遗传学与多倍体育种。E-mail: zhangpd@bjfu.edu.cn

成大量具有活力的小孢子,参与有性生殖过程。现代分子遗传学研究表明,植物减数分裂是一个多基因在减数分裂不同时期和花器不同部位参与表达的精细过程,其中任何过程出现异常都可能导致花粉产生变异,甚至会致使小孢子败育。

胡杨(*Populus euphratica*)是我国西部干旱荒漠地区内陆河流域两岸天然分布的乔木树种之一,具有耐盐碱<sup>[3]</sup>、抗干旱等优良特性,在维护分布区内的生态平衡、保障绿洲区农牧业生产和为居民提供木材等方面发挥着重要作用<sup>[4]</sup>,具有一定的育种价值。由于其无性繁殖困难,与杨属内其他派间树种杂交可配性差,严重制约了胡杨良种选育研究的进程<sup>[5]</sup>。20 世纪 80 年代,李文钿<sup>[6]</sup>等对胡杨小孢子母细胞的发生发育开展了初步研究。张平冬<sup>[7]</sup>等利用醋酸洋红压片法和间接免疫荧光法,对胡杨小孢子发生过程中的微管骨架动态变化和染色体行为进行了研究,发现胡杨花粉中存在未减数 2n 花粉。至今还未见胡杨减数分裂进程与花芽外部形态、花药颜色以及花粉变异间相关关系的报道。本文利用醋酸洋红压片法对胡杨小孢子母细胞减数分裂进程与花芽外部形态以及花药颜色变化的关系、花粉形态多样性等开展了研究。该研究有助于理解杨属派间减数分裂行为差异和特异现象以及减数分裂异常与花粉变异的关系,为胡杨良种选育策略的制定提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2011 年 12 月中旬,课题组成员去往内蒙古自治区额济纳旗东河乌兰图格地区的胡杨天然林进行胡杨雄花枝采集。胡杨雄性样株的选取采用随机抽样法抽取,共计抽取了 18 个雄性样株。为了保证每样株属于不同的基因型,抽样时每样株间的间距至少 50 m 以上。分单株采集花枝,塑料布包裹后快递运回北京林业大学。

### 1.2 试验方法

2011 年 12 月底,将胡杨雄花枝移入北京林业

大学林木育种国家工程实验室温室进行切枝水培,培养温度控制 10~20℃。每隔 3~4 h 随机摘取 2~3 个雄花芽,经卡诺固定液(乙醇:乙酸=3:1)固定后,利用醋酸洋红染色法制作临时压片,即时判别小孢子母细胞减数分裂时期。待小孢子母细胞发育至细线期时,每隔 2 h 固定 1 次,每次固定 3~5 个花芽,直至花药成熟散粉为止。胡杨花药在-4℃的冰箱固定 24 h 后,转移至 70%的酒精中保存待用。

采用醋酸洋红染色压片法观察小孢子母细胞减数分裂染色体行为,永久制片参考康向阳<sup>[8]</sup>的方法:取经卡诺固定液充分固定的胡杨雄花芽,摘取中部小花,去除花盘后放置在洁净的载玻片上,滴加 4、5 滴醋酸洋红,用尖嘴镊子夹碎花药制作涂片,经火焰干燥后进行镜检、照相。

收集胡杨成熟花粉,经醋酸洋红染色后,放置于 Olympus BX51 光学显微镜下进行镜检,并采用 Olympus DP70 显微照相系统进行数码拍照,花粉粒直径测量以及天然 2n 花粉比率的统计。每基因型测量 2 000 个以上的花粉粒。直径超过其平均值 1.28 倍的花粉粒被视为 2n 花粉<sup>[9]</sup>。2n 花粉频率为 2n 花粉占观察花粉粒总数的百分比。

## 2 结果与分析

### 2.1 胡杨减数分裂进程与雄花芽外部形态变化的对应关系

胡杨减数分裂进程与雄花芽外部形态及花药颜色变化存在明显的对应关系(表 1)。温室条件下水培至 288 h,小孢子母细胞进入第 1 次减数分裂前期,此时雄花芽略微膨大,花药颜色为嫩绿色(图 1,A-B);随后,花芽进一步膨大,芽鳞出现微裂,花药颜色由微黄色转变成微红色(图 1,C-H),小孢子母细胞减数分裂由中期 I 发育至末期 II。水培至 316 h,小孢子母细胞减数分裂进入四分体时期,花芽仍在继续膨大,芽鳞裂口增大,花药颜色由微红色转变为浅红色(图 1,I-J)。

表 1 胡杨减数分裂进程与雄花芽形态以及花药颜色变化的对应关系

Table 1 Relationship between meiotic stage of microspore mother cell and shapes of flower bud and anther color in <i>Populus euphratica</i>			
水培时间/h	花序(芽)变化	花药颜色	减数分裂时期
288	花芽略微膨大,芽鳞未开裂(图 1-A)	嫩绿色(图 1-B)	细线期-终变期(图 2,1-6)
302	花芽膨大,芽鳞未开裂(图 1-C)	微黄色(图 1-D)	中期 I -末期 I (图 2,7-13)
308	花芽膨大,芽鳞微裂(图 1-E)	微红色(图 1-F)	前期 II -后期 II (图 2,14-20)
312	花芽膨大,芽鳞微裂(图 1-G)	微红色(图 1-H)	末期 II、四分体(图 2,21-23)
316	花芽膨大,芽鳞开裂(图 1-I)	浅红色(图 1-J)	四分体(图 2,23)

## 2.2 胡杨减数分裂染色体行为观察

胡杨雄花枝经历约 288 h 的水培后,小孢子母细胞发育至细线期,此时可观察到 2 个正在融合的核仁,一个大核仁 and 一个小核仁,染色体呈细线状,聚集成团,偏在核仁的一侧(图 2-1);偶线期,染色体缩短变粗,同源染色体相互靠近,开始出现联会现象,2 个核仁依然清晰可见(图 2-2);粗线期,同源染色体联会结束,形成四合体,染色体明显变粗,核仁融合结束,形成一个核仁(图 2-3);进入双线期后,四合体继续缩短变粗,同源染色体开始部分分离(图 2-4),单价体偶尔可见,可观察到 3 对同源染色体与核仁相连(图 2-5);终变期,染色体进一步缩短,呈颗粒状,核仁变小直至消失,是染色体计数最佳时期之一(图 2-6)。紧接着,减数分裂进入中期 I,此时核仁完全消失,细胞内出现纺锤体,四合体逐渐移向赤道板,并整齐地定位于赤道板中央(图 2-7),单价体清晰可见(图 2-8);后期 I,由于纺锤体牵引,同源染色体逐步分离,向细胞两极移动(图 2-9),常伴随有落后染色体,滞留在赤道板中央(图 2-10);同源染色体抵达到细胞两极后,减数分裂进入末期 I(图 2-11),此时染色体开始解螺旋,核仁重现(图 2-12),每子核最多可见 8 个小核仁(图 2-13),染色体恢复成线状,难以染色观察,标志着减数第一次分裂结束。

随着小核仁融合,染色体又一次缩短变粗,外形呈“X”型,表明减数分裂已进入前期 II(图 2-14);至中期 II,核仁消失,染色体移向子细胞的赤道板中央,出现纺锤体,可以看见平行纺锤体(图 2-15)、三极纺锤体(图 2-16)以及融合纺锤体(图 2-17)3 种形态,偶尔还可看见减数分裂中期 II 的不同步现象,其中一子细胞的染色体已表现出中期 II 的特征,而另一子细胞的染色体还停留在晚前期 II(图 2-18);后期 II,姊妹染色单体在纺锤体的牵引下彼此分离,移向子细胞的两极(图 2-19),也能看见落后染色体(图 2-20);分离的姊妹染色单体抵达子细胞的两极后,减数分裂进入末期 II(图 2-21),此时姊妹染色单体进行解螺旋,核膜核仁重新出现,标志着第二次减数分裂结束。与末期 I 相似,末期 II 也可观察到多核仁现象(图 2-22),且每一子核内最多能观察到 4 个核仁。一般来说,小孢子母细胞经减数分裂会形成四分孢子,即四分体(图 2-23)。但由于减数分裂中期 II 纺锤体定位异常和胞质分裂异常的发生,通常可观察到三分体(图 2-24)和二分体(图 2-25)的存在。

## 2.3 胡杨花粉形态多样性

小孢子母细胞减数分裂的直接产物就是花粉。由于胡杨减数分裂 II 平行纺锤体、三极纺锤体以及

融合纺锤体的存在,胞质分裂异常,致使天然未减数 2n 花粉(图 2-26)以及连体花粉(图 2-27)的产生。18 个胡杨雄株的平均花粉粒直径、2n 花粉以及连体花粉频率的调查结果见表 2。

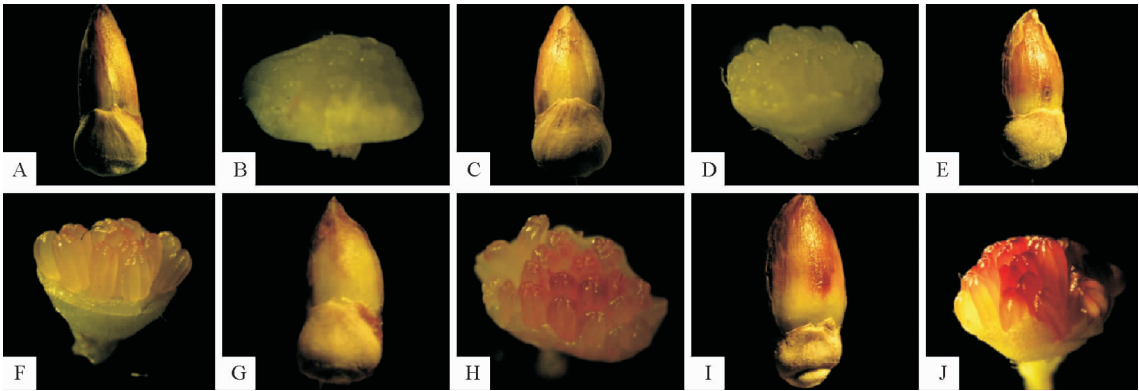
一般认为,花粉粒直径大于该无性系或树种花粉粒平均直径 1.28 倍的花粉粒为未减数的 2n 花粉。在胡杨花粉中有未减数 2n 花粉的存在(图 2-26),且在不同基因型之间 2n 花粉频率存在明显差异(表 2)。在 18 个胡杨雄株中,基因型 HY1 等 16 个胡杨单株可以产生 2n 花粉,基因型 HY17 以及 HY31 不产生 2n 花粉。在产生 2n 花粉胡杨雄性单株个体中,不同单株间 2n 花粉频率具有一定的差异,其中以基因型 HY25 的 2n 花粉频率最高,达 4.37%;基因型 HY7 以及 HY28 的 2n 花粉频率最低,仅为 0.49%。通过统计四分体时期四分体、三分体以及二分体的产生频率,可以计算出理论 2n 花粉频率(表 2)。经  $\chi^2$  检验发现 2n 花粉的理论值与实际观察值相符。

胡杨花粉中有时也可以看见连体花粉的存在(图 2-27),也就是 2 个花粉粒在相接触部位只形成不完整的花粉壁,或虽形成花粉壁但仍由胼胝质粘连在一起的异常花粉。从表 2 可以看出,尽管连体花粉的发生频率较低,介于 0.07%~0.55%之间,但连体花粉在胡杨不同单株间是普遍存在的。

从表 2 还可以看出,胡杨花粉的平均直径为  $(29.7 \pm 1.9) \mu\text{m}$ 。不同胡杨基因型间花粉粒平均直径存在一定的差异,其中以基因型 HY14 的平均花粉粒直径最大,为  $(33.0 \pm 3.5) \mu\text{m}$ ,基因型 HY28 的平均花粉粒直径最小,仅为  $(26.5 \pm 2.9) \mu\text{m}$ 。不同基因型间花粉粒直径的方差分析结果表明,基因型对胡杨花粉粒大小的影响达到了显著水平。基因型 HY14、HY20、HY34、HY23、HY33 以及 HY8 的花粉粒平均直径显著大于基因型 HY28、HY24 以及 HY25 的平均直径。在同一基因型内,胡杨花粉粒直径也存在一定的差异,其中以基因型 HY25 花粉粒直径的差异最大,其标准差达  $5.1 \mu\text{m}$ ,基因型 HY17 花粉粒直径的差异最小,其标准差为  $2.2 \mu\text{m}$ 。

## 3 结论与讨论

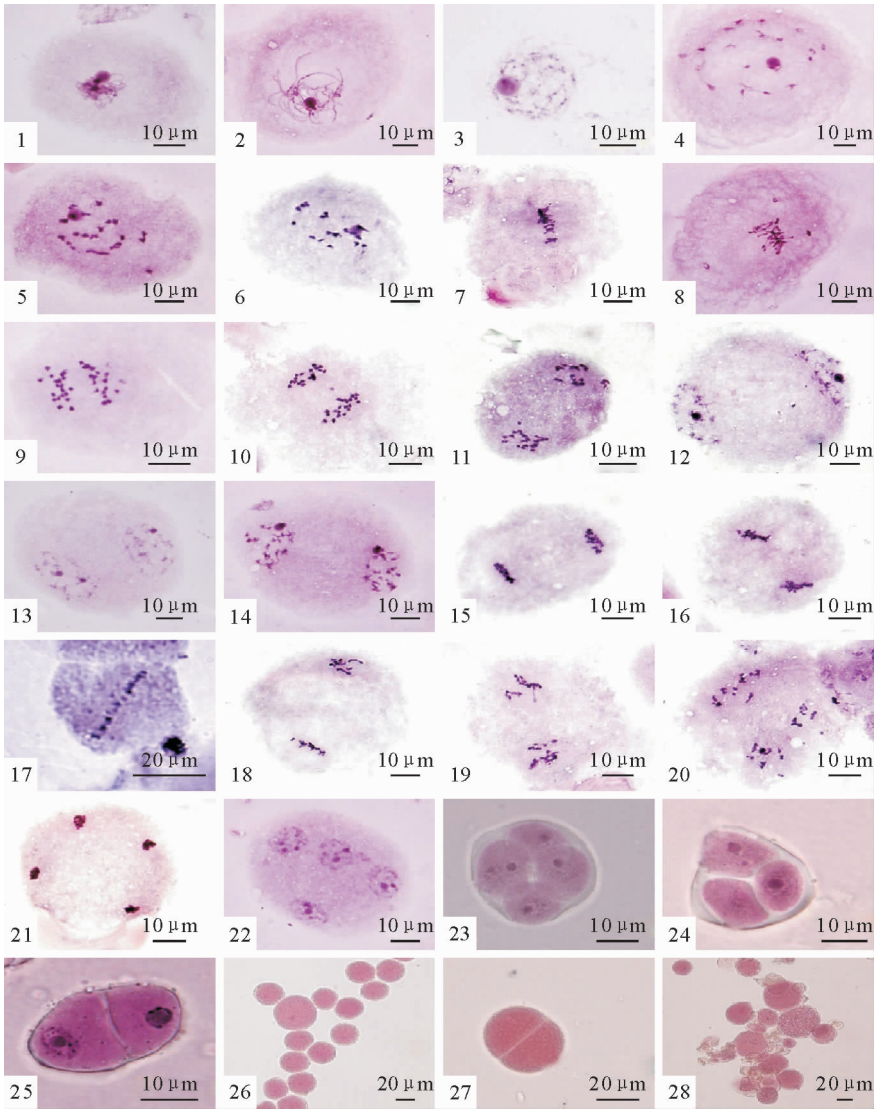
研究发现,在温室 10~20℃ 切枝水培 316 h,胡杨小孢子母细胞可完成减数分裂。随着减数分裂的发生、发展,雄花芽的外部形态和花药颜色也会发生相应变化。其中以花药颜色变化较为明显,由细线期的嫩绿色转变为四分体时期的浅红色,可作为即时判别胡杨小孢子母细胞减数分裂进程的外部形态学依据<sup>[10]</sup>。



A、B 胡杨略微膨大、芽鳞尚未开裂的雄花芽与嫩绿色花药；C、D 膨大、芽鳞尚未开裂的雄花芽与微黄色花药；  
E、F、G、H 膨大、芽鳞微裂的雄花芽与微红色花药；I、J 膨大、芽鳞开裂的雄花芽与浅红色花药。

图 1 胡杨小孢子母细胞减数分裂与花粉变异

Fig. 1 On meiosis of microspore mother cell and variations of pollen grains in *P. euphratica*



1. 细线期；2. 偶线期；3. 粗线期；4. 双线期；5. 双线期单价体；6. 终变期；7. 中期Ⅰ；8. 中期Ⅰ的单价体；9. 后期Ⅰ；10. 后期Ⅰ的落后染色体；11. 末期Ⅰ；12. 末期Ⅰ的落后染色体；13. 末期Ⅰ的多核仁现象；14. 前期Ⅱ；15. 中期Ⅱ的平行纺锤体；16. 中期Ⅱ的三极纺锤体；17. 中期Ⅱ的融合纺锤体；18. 减数分裂中期Ⅱ的不同步，一组染色体已呈现中期Ⅱ的特征，另一组还停留在晚前期Ⅱ；19. 后期Ⅱ；20. 后期Ⅱ的落后染色体；21. 末期Ⅱ；22. 末期Ⅱ的多核仁现象；23. 四分体；24. 三分体；25. 二分体；26. 未减数 2n 花粉；27. 连体花粉；28. 部分败育的花粉。

图 2 胡杨小孢子母细胞减数分裂与花粉变异

Fig. 2 On meiosis of microspore mother cell and variations of pollen grains in *P. euphratica*

表 2 胡杨小孢子母细胞减数分裂四分体时期的小孢子群以及花粉变异

Table 2 Frequency of different sporads, expected and observed rates of 2n pollen grains, and diameter of pollen grains in *P. euphratica*

基因型	小孢子群			理论 2n 花粉频率	实际 2n 花粉频率	$\chi^2$	连体 花粉频率	平均直径
	四分体	三分体	二分体					
HY1	98.00	0.99	0.99	0.75	0.99	18.71	0.20	29.3±3.1ab
HY2	96.15	0.75	3.10	1.77	0.97		0.16	30.2±3.1ab
HY6	97.37	2.25	0.38	0.76	1.43		0.31	29.5±3.0ab
HY7	97.33	1.74	0.93	0.91	0.49		0.11	29.5±3.0ab
HY8	98.27	1.36	0.37	0.53	1.79		0.23	31.2±3.5a
HY14	90.79	3.58	5.63	3.85	4.35		0.10	33.0±3.5a
HY15	95.46	1.41	3.13	1.95	2.93		0.32	29.2±4.4ab
HY16	98.31	1.31	0.38	0.52	0.97		0.15	29.8±3.4ab
HY17	99.36	0.51	0.13	0.19	0		0.10	28.7±2.2ab
HY20	93.10	4.56	2.34	2.36	3.81		0.41	32.5±3.3a
HY23	96.80	1.23	1.97	1.31	4.33	18.71	0.33	31.4±4.4a
HY24	97.57	1.40	1.03	0.87	0.48		0.07	26.6±2.7b
HY25	95.07	3.20	1.73	1.69	4.37		0.36	26.9±5.1b
HY27	98.62	0.77	0.61	0.50	0.95		0.28	29.0±3.0ab
HY28	98.09	1.14	0.77	0.67	0.49		0.13	26.5±2.9b
HY31	98.16	1.27	0.57	0.61	0		0.55	27.9±2.4ab
HY33	94.10	2.63	3.27	2.35	2.34		0.32	31.3±3.9a
HY34	96.22	3.13	0.65	1.12	0.99		0.22	31.8±2.4a
平均值	96.60	1.85	1.55	1.25	1.76		0.24	29.7±1.9

从减数分裂过程中染色体行为变化来看,其减数分裂双线期和中期Ⅰ均有单价体存在,说明胡杨减数分裂偶线期联会的二价体结合松散;另外,后期Ⅰ、末期Ⅰ以及后期Ⅱ可观察到落后染色体,表明胡杨的 19 对同源染色体之间表现出了一定程度的异质性。这种异质性可能与胡杨花粉的部分败育现象(图 2-28)有关。

胡杨小孢子发生过程中常常伴随有核仁形态和核仁数目的动态变化,在减数分裂末期Ⅰ以及末期Ⅱ的子核内,最多可见 8 个核仁。曾在‘中东杨’( *Populus berolinensis* )<sup>[11]</sup>、毛白杨( *Populus tomentosa* )<sup>[8,12]</sup>、响叶杨( *Populus adenopoda* )<sup>[10,13]</sup>、欧洲黑杨( *Populus nigra* )<sup>[14]</sup> 以及‘通辽杨’( *Populus mionii* × *Populus nigra* ‘Tong liao’) <sup>[15]</sup> 的小孢子母细胞减数分裂过程也发现了此现象,这表明多核仁现象可能是普遍存在于杨属植物减数分裂过程中。因核仁数目与植物的倍性关系密切,多核仁现象是多倍性的一种重要标志,据此推测,这种多核仁现象可能与杨属植物的古多倍体起源紧密相关<sup>[8,16]</sup>。另外,由于最多的核仁数目应与核仁组织者(NOR)区的数目相等<sup>[17]</sup>,试验中观察到胡杨减数分裂末期Ⅱ的 4 个子细胞中核仁数目最多为 8 个,这与毛白杨<sup>[8]</sup>、响叶杨<sup>[10]</sup> 以及通辽杨<sup>[15]</sup> 的研究结果相似,据此推断胡杨染色体组中至少有 8 对具有核仁组织者区的染色体。

在杨属植物中,已在毛白杨<sup>[18-19]</sup>、响叶杨<sup>[13]</sup>、‘通辽杨’<sup>[15]</sup>、香脂杨( *Populus balsamifera* )<sup>[20]</sup> 以

及灰杨( *Populus canescens* )<sup>[21]</sup> 等树种中均发现有天然未减数 2n 花粉的存在。有关研究表明,染色体联会、着丝粒分裂、中期Ⅱ纺锤体定位、胞质分裂等异常以及减数后加倍均可导致 2n 花粉发生<sup>[22-24]</sup>。其中纺锤体定位异常倍受植物遗传学家的关注<sup>[25]</sup>。一般认为,平行纺锤体和融合纺锤体可致使二分体的产生,三极纺锤体则可导致三分体的产生。据文献报道,毛白杨天然 2n 花粉发生主要是由于减数第二次分裂过程平行纺锤体极点融合所致<sup>[26]</sup>。在本研究中,减数分裂中期Ⅱ可以观察到一定比例的平行纺锤体、三极纺锤体以及融合纺锤体的同时,也可以观察到 0~4.37% 比例不等的天然 2n 花粉。这预示着胡杨小孢子母细胞减数分裂中期Ⅱ纺锤体定位异常可能与天然 2n 花粉的形成相关。

连体花粉是植物小孢子母细胞减数分裂后胞质分裂失败的产物。据文献记载,松香草( *Silphium perfoliatum* )、毛白杨、‘通辽杨’、白杨异源三倍体等树种中均存在一定比例的连体花粉<sup>[19,27-29]</sup>,说明连体花粉的发生在植物界具有普遍性。有关连体花粉发生的遗传学机理有待进一步研究。

参考文献:

[1] MC CORMICK S. Male gametophyte development [J]. Plant Cell, 1993(5):1265-1275.  
[2] MA H. Molecular genetic analysis of microsporogenesis and microgametogenesis in flowering plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 2005, 56:393-434.

[3] 陈彩霞,司瑞新,沈昕,等. 转  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白 (*PeNhaD1*) 基因派间杂种 110 杨的获得[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(1):61-65.

CHEN C X, SI X R, SHEN X, *et al.* Genetic transformation of *PeNhaD1* gene to the hybrid poplar 110 [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(1):61-65. (in Chinese)

[4] 张昊,李景文,李俊清,等. 额济纳绿洲胡杨地上部分建构模式的研究[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(5):46-49.

ZHANG H, LI J W, LI J Q, *et al.* Branching patterns of *Populus euphratica* in the Ejina Oasis of Inner Mongolia [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(5):46-49. (in Chinese)

[5] 张平冬,康向阳,韩锦. 胡杨嫁接繁殖研究初报[J]. 干旱区资源与环境, 2005, 19(4):197-200.

[6] 李文钿,朱彤. 胡杨花粉和胚囊的发育[J]. 林业科学研究, 1988, 1(2):132-137.

[7] 张平冬,康向阳. 胡杨小孢子发生及微管骨架变化与异常研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(11):2166-2177.

ZHANG P D, KANG X Y. Organization of microtubule and its abnormities during microsporogenesis in *Populus euphratica* [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2013, 33(11):2166-2177. (in Chinese)

[8] 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.

[9] ORJEDA G, FREYRE R, IWANAGA M. Production of 2n pollen in diploid *Ipomoea trifida*, a putative wild ancestor of sweet potato [J]. J. Hered, 1990, 81:462-467.

[10] 鲁敏,王君,王旭军,等. 响叶杨小孢子母细胞减数分裂及染色体行为的研究[J]. 植物科学学报, 2011, 29(2):171-177.

LU M, WANG J, WANG X J, *et al.* Meiosis and chromosome behavior of microsporocytes in *Populus adenopoda* Maxim [J]. Plant Science Journal, 2011, 29(2):171-177. (in Chinese)

[11] 刘玉喜,张教方,陆志华. 中东杨小孢子的发生[J]. 东北林学院学报, 1979(2):1-4.

[12] 康向阳,朱之悌,张志毅. 毛白杨花粉母细胞减数分裂及其进程的研究[J]. 北京林业大学学报, 2000, 22(6):5-7.

KANG X Y, ZHU Z T, ZHANG Z Y. Meiosis and its stages of pollen mother cells in Chinese white poplar [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2000, 22(6):5-7. (in Chinese)

[13] 鲁敏. 响叶杨三倍体和四倍体诱导技术研究[D]. 北京:北京林业大学, 2013.

[14] 许雯婷,赵健,赵楠,等. 欧洲黑杨花粉母细胞减数分裂观察及其不同步性分析[J]. 西北植物学报, 2011, 31(10):1981-1987.

XU W T, ZHAO J, ZHAO N, *et al.* Meiosis of pollen mother cells and their asynchrony in *Populus nigra* L. [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2011, 31(10):1981-1987. (in Chinese)

[15] 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.

WANG J, KANG X Y, LI D L, *et al.* Meiosis and chromo-

some behavior of pollen mother cell in *Populus simonii* Carr.  $\times$  *P. nigra* L. ‘Tongliao’[J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2006, 26(11):2231-2238. (in Chinese)

[16] VAN DILLEWIJN C. Cytology and breeding of *Populus* [J]. Ned Boschb Tijdschr, 1939, 12:470-481.

[17] 李懋学,张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1996.

[18] 朱之悌,林惠斌,康向阳. 毛白杨异源三倍体 B301 等无性系选育的研究[J]. 林业科学, 1995, 31(6):499-505.

ZHU Z T, LIN H B, KANG X Y. Studies on allotriploid breeding of *Populus tomentosa* B301 clones [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1995, 31(6):499-505. (in Chinese)

[19] 康向阳. 毛白杨未减数 2n 花粉发生机制的研究[J]. 北京林业大学学报, 2002, 24(5/6):67-70.

KANG X Y. Mechanism of 2n pollen occurring in Chinese white poplar [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2002, 24(5/6):67-70. (in Chinese)

[20] MANZOS A M. Fastgrowing form of *Populus balsamifera* obtaied by polliating female flowers with fractionated pollen of the same species [J]. DoklAkad Nauk S SSR, 1960, 130(2):433-435.

[21] SEITZ FW. The occurrence of triploids after self-pollination of anomalous androgynous flowers of a gray poplar [J]. Z. Forstgenet, 1954, 3(1):1-6.

[22] VEILLEUX R. Diploid and polyploid gametes in crop plants: Mechanisms of formation and utilization in plant breeding [J]. Plant Breed Rev. , 1985, 3:253-288.

[23] BRETAGNOLLE F, THOMPSON J. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants [J]. New Phytol. , 1995, 129:1-22.

[24] RAMSEY J, SCHEMSKE D. Pathway, mechanisms, and rates on polyploid formation in flowering plant [J]. Annu. Rev. Ecol. Syst. , 1998, 29:467-501.

[25] ZHANG J, WEI Z, LI D, *et al.* Using SSR markers to study the mechanism of 2n pollen formation in *Populus*  $\times$  *euramericana* (Dode) Guinier and *P.*  $\times$  *popularis* [J]. Ann. For. Sci. , 2009, 66(506):1-10.

[26] ZHANG Z, KANG X, ZHANG P, *et al.* Incidence and molecular markers o f 2n pollen in *Populus tomentosa* Carr. [J]. Euphytica , 2007, 154:145-152.

[27] 熊治廷,刘成运,黄仁煌,等. 松香草花粉母细胞减数分裂及雄配子体发育-兼对某些异常花粉的观察[J]. 武汉植物学报, 1989, 8(3):297-300.

XIONG Z T, LIU C Y, HUANG R H, *et al.* Pollen mother cell meiosis and pollen development in *Silphium perfoliatum* L. with observation on some abnormal pollen grains [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1990, 8(3):297-300. (in Chinese)

[28] 王君. 青杨派树种多倍体诱导技术研究[D]. 北京:北京林业大学, 2009.

[29] WANG J, KANG XY, ZHU Q. Variation in pollen formation and its cytological mechanism in an allotriploid white poplar [J]. Tree Genetics & Genomes, 2010(6):281-290.