

文章编号: 1004-0374(2009)01-0139-06

## 植物无融合生殖研究新进展

贺凤丽, 马三梅\*

(暨南大学生物工程学系, 广州 510632)

**摘要:** 无融合生殖是指不经过雌雄配子融合而产生种子的一种特殊生殖方式, 能使基因型的杂合性得以保持, 从而可以固定杂种优势, 对作物育种具有极其重要的意义。目前大量的研究都在设法将无融合生殖作为一种重要的植物育种手段。本文对近几年来无融合生殖新种质资源的发现、主要研究方法、遗传机制和相关基因等方面的最新进展作了介绍, 并对无融合生殖研究中存在的问题和发展前景作了讨论。

**关键词:** 植物; 无融合生殖; 种质资源; 遗传机制; 基因

**中图分类号:** Q944.4      **文献标识码:** A

## Recent advances in the study on apomixis in plants

HE Feng-li, MA San-mei\*

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Apomixis provides a unique opportunity to fix and utilize hybrid vigor. A number of research programs around the world have tried to use apomixis as an important plant-breeding tool. This paper presents a brief review of the current status of knowledge in the main fields of apomixis research. New apomictic plants are enumerated. Genetic mechanism is summarized. The problems in this field and development prospects are discussed.

**Key words:** plant; apomixis; germplasm resource; genetic mechanism; gene

无融合生殖是植物生殖生物学中的一个重要方面, 对它的深入研究将有助于阐明植物生殖生物学中的重大理论问题, 对培育新品种也具有重要的现实意义。随着遗传学、分子生物学及其相应技术的飞速发展, 植物的无融合生殖已成为生物学中较为活跃的研究领域之一, 受到国内外众多科学家的重视<sup>[1, 2]</sup>。有关植物无融合生殖的研究进展, 前人已进行了一些综述和总结<sup>[3-7]</sup>; 我们也曾对植物无融合生殖的遗传机理和分子机理、人工创造植物无融合生殖、植物无融合生殖鉴定方法及其进展进行了总结<sup>[8-11]</sup>。近几年无融合生殖研究又取得了新的进展, 如 Okada 等<sup>[12]</sup>通过农杆菌介导法将 *loa1* (*loss of apomeiosis 1*) 基因导入无融合生殖植物 *Hieracium aurantiacum* 的基因组中, 结果发现, 转化植株失去形成无融合生殖种子的能力, 表明 *loa1* 的缺失与无融合生殖的起始有关。

本文主要从无融合生殖新种质资源的发现、对已有无融合生殖种质的性状改良、无融合生殖的显微结构和超微结构观察、分子标记和原位杂交、遗传机制及相关基因等方面, 从2003年以来植物无融合生殖的研究进展作一综述。

### 1 无融合生殖种质资源的新发现和性状改良及创造新的无融合生殖种质资源

#### 1.1 自然界中进行无融合生殖的新种质资源的发现

据报道, 自1841年 Smith 首先在麻杆属中发现无融合生殖以来, 已在被子植物29目35科434个物种中发现了无融合生殖特性<sup>[13]</sup>。近年来, 又有一些存有无融合生殖的植物种类被人们发现。例如 Barcaccia 等<sup>[14]</sup>利用流式细胞仪对贯叶连翘 (*Hypericum*

收稿日期: 2008-07-01; 修回日期: 2008-11-03

\* 通讯作者: msmwdw@163.com

*perforatum*)的种子进行分析,结果发现,贯叶连翘进行兼性无融合生殖(facultative apomixis)。Cardone等<sup>[15]</sup>发现,禾本科的弯叶画眉草(*Eragrostis curvula*)可进行二倍体孢子生殖,而且是进行专性无融合生殖(obligate apomixis),胚囊类型为蝶须型(antennaria type)。Garcia等<sup>[16]</sup>发现,禾本科的毛花雀稗(*Paspalum dilatatum* Poir.)的四倍体进行有性生殖,五倍体则进行无融合生殖。Acuna等<sup>[17]</sup>发现,分布于美国南部的百喜草(*Paspalum notatum* Flugge)三倍体主要进行无融合生殖。

*Macroptilium arenarium*是豆科大翼豆属的一种植物,它闭花受精的花进行无融合生殖<sup>[18]</sup>。菊科山柳菊属的*Hieracium pilosella*进行兼性无融合生殖<sup>[19]</sup>。曾庆文等<sup>[20]</sup>对焕镛木(*Woonyoungia septentrionalis* (Dandy) Law)自然种群的繁育系统研究发现,焕镛木既能通过有性生殖方式结实,又能通过无融合生殖方式结实,而且这两种生殖方式获得的种子均能萌发成幼苗。这是首次报道木兰科植物中存在无融合生殖现象。Yao等<sup>[21, 22]</sup>采用石蜡切片技术对龙须草(*Eulaliopsis binata* Rotz)进行系统的胚胎学研究,证明龙须草为禾本科植物中一种新的无融合生殖材料,宽叶型进行专性无融合生殖,窄叶型和红秆型进行兼性无融合生殖。张鹏飞等<sup>[23]</sup>对核桃(*Juglans regia*)无融合生殖结实率的研究结果表明,4个供试品种都具有一定的无融合生殖能力,平均无融合生殖率为15.72%,最高达37.5%。另外,在蕨类植物*Pteris fauriei* var. *fauriei*中也发现无融合生殖的现象<sup>[24]</sup>。

**1.2 对已有无融合生殖种质的性状改良** 随着转基因技术的日益成熟,目前已成功地将外源基因导入已有的无融合生殖种质中,既增加了新的性状,又避免了外源基因向其他物种扩散。例如百喜草进行无融合生殖,在美国东南部地区高速公路旁边广泛种植。Agharkar等<sup>[25]</sup>利用玉米的组成型泛素启动子与一个分解赤霉素的基因AtGA2ox1及Nos终止子构建表达载体,通过基因枪导入百喜草基因组中,Southern杂交证实外源基因稳定表达。与野生型相比,转基因植株的内源赤霉素水平降低,分蘖数目增加,植株的高度下降,开花延迟,草皮的密度也增加。

此外,也可以通过组织培养和诱变的方法培养出生殖方式改变的新种质。例如Cardone等<sup>[15]</sup>利用进行专性二倍体孢子生殖的弯叶画眉草品种

“Tanganyika”的未成熟花序作为实验材料,进行离体培养,获得了一种特殊的植株“UNST1122”,这个植株进行有性生殖。对 $R_1$ 代产生的500粒种子进行秋水仙素加倍,获得两株加倍植物,RAPD分析表明,这些后代进行有性生殖。这样获得的进行有性生殖的四倍体可用于弯叶画眉草育种,也可用于作图群体的构建。

**1.3 人工创造新的无融合生殖植物种质资源** 冯辉等<sup>[26]</sup>以9个韭菜品系为试材,人工去雄后用二甲基亚砷、激动素和失活韭菜花粉诱导,获得无融合生殖种子。无融合生殖植株自交后代多胚苗发生频率明显提高,说明多胚苗与无融合生殖有关。甜菜(*Beta vulgaris*)单体附加系“M14”的染色体组成中除了含有18条栽培甜菜染色体外,还附加有一条野生白花甜菜(*Beta corolliflora*)第9号染色体,该附加染色体通过母本的传递率为96.5%;单体附加系进行无融合生殖<sup>[27]</sup>。李春秋<sup>[28]</sup>通过用不同浓度的化学药剂处理不同生育期的玉米自交系及杂交组合,从而诱导玉米无融合生殖的研究,发现几种试剂对诱导玉米的无融合生殖发生频率为0%—54.80%,诱导后代出现丰富的变异类型。Ravi等<sup>[29]</sup>通过突变拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中负责调控染色体减数分裂的基因DYAD/SWITCH1 (SWI1),从而导致不完全减数分裂,结果发现二倍体植物能繁殖产生三倍体种子,该三倍体种子是由一个单倍体雄配子授精一个未经减数分裂的雌配子产生,表明通过改变有性生殖植物的单个基因可获得无融合生殖植物材料。

## 2 植物无融合生殖的主要研究方法

从国内外的研究现状来看,无融合生殖的研究方法有常规的杂交和显微结构观察等,但随着分子生物学技术的发展,超微结构的观察、分子标记、原位杂交以及流式细胞仪等已成为目前无融合生殖研究的主要方法。

**2.1 无融合生殖显微结构和超微结构的研究** 目前,显微观察法和超微结构研究法是研究无融合生殖胚囊发育的重要方法。例如Yao等<sup>[21]</sup>采用石蜡切片技术对龙须草进行胚胎学研究,证明龙须草无融合生殖方式为无孢子生殖,胚囊类型是大黍型(Panicum-type),存在多胚现象,胚的发生有早发生胚和迟发生胚两种类型。申业等<sup>[30]</sup>利用常规石蜡制片法,对甜菜单体附加系“M14”雌配子体的发生与发育进行了研究,结果表明,“M14”二倍体孢子生殖的雌配子体为韭型(*Allium odorum*-type)

和蝶须型; 有性生殖雌配子体为蓼型(Polygonum-type)。“M14”的胚胎学研究结果表明, 二倍体孢子无融合生殖的胚珠中, 珠孔处看不到花粉管, 胚囊没有发生受精作用, 卵细胞和次生核均可以自发分裂分别产生无性胚和胚乳; 有性生殖胚珠中, 珠孔处可见多条花粉管, 胚囊里见到精卵融合的图像<sup>[31]</sup>。

申业等<sup>[32]</sup>应用脱色苯胺蓝诱导荧光法观察了甜菜单体附加系“M14”正常有性生殖与二倍体孢子生殖的胼胝质的变化情况, 结果表明, 韭型胚囊在大孢子发生时, 大孢子母细胞呈现胼胝质荧光; 二分体时, 局部细胞壁具有荧光, 二倍体功能大孢子的合点端细胞壁内的胼胝质荧光消失。单核胚囊形成后, 其细胞壁内无胼胝质荧光, 而退化的大孢子细胞壁胼胝质荧光显著。蝶须型胚囊大孢子发生时, 大孢子母细胞、二倍体功能大孢子的细胞壁均无胼胝质荧光。蓼型胚囊的大孢子母细胞、二分体、三分体、四分体时期, 都有胼胝质荧光, 退化的大孢子细胞壁胼胝质荧光明显, 功能大孢子细胞壁上缺少胼胝质荧光。

Barcaccia 等<sup>[14]</sup>对贯叶连翘的胚胎学的研究表明, 无孢子生殖原始细胞是在大孢子母细胞分化时期出现的。*M. arenarium*的胚胎学研究发现开花受精的珠心中具有四分体, 而闭花受精的花中仅仅发现了大孢子二分体, 闭花受精的花可以进行无融合生殖<sup>[18]</sup>。

Guan等<sup>[33]</sup>对进行兼性无融合生殖的大黍(*Panicum maximum*)的超微结构研究发现, 无融合生殖胚囊位于珠孔端, 含有2个助细胞、1个卵细胞和1个单核中央细胞。卵细胞细胞质浓厚, 质体和线粒体围绕细胞核。极核具备一个大液泡, 大液泡几乎占据了整个细胞, 细胞质比卵细胞的淡一些, 分布在卵器的周围; 中央细胞在珠孔端的细胞壁向内突出, 表明这种结构与运输营养有关。助细胞的细胞质更淡, 脂质体、质体和线粒体等细胞器主要沿珠孔端的丝状器(filiform apparatus)分布。丝状器主要位于助细胞的顶端, 与有性生殖的胚囊相同。

此外, 对已经确定进行无融合生殖的种质资源的研究也在进一步深入。例如非洲狼尾草(*Pennisetum squamulatum*)的染色体数目过去认为是六倍体( $2n = 6x = 54$ ), 利用着丝粒和18S-5.8S-26S rDNA作为探针的研究发现, 非洲狼尾草是八倍体( $2n = 8x = 56$ )<sup>[34]</sup>。刘传虎等<sup>[35]</sup>对禾本科无融合生殖植物龙须

草的染色体数目进行深入的研究, 发现龙须草根尖细胞染色体数目为40条, 是异源四倍体植物。

**2.2 无融合生殖的分子标记和原位杂交的研究** 近年来随着分子标记技术的发展, RAPD、AFLP和mRNA差异展示技术等分子标记技术已被广泛地用于无融合生殖的研究, 促进了无融合生殖遗传机理和分子机制的研究。

刘传虎等<sup>[36]</sup>利用RAPD分子标记和形态特征观察, 分析研究了中国12个龙须草居群的遗传差异, 16个寡聚核苷酸引物扩增共得到124条带, 其中110条为多态性带。

百喜草二倍体进行有性生殖, 四倍体进行无融合生殖。Espinoza等<sup>[37]</sup>对来源于美国多个百喜草群体的配子体的形态学进行了AFLP的研究, 从这些群体的基因型中产生了1342个AFLP片段, 其中有11个AFLP的特异片段仅仅在无融合生殖的植株中发现, 这些特异片段可能与无孢子生殖有关。Goel等<sup>[38]</sup>利用8个与无融合生殖特定遗传区域(apospory-specific genomic region, ASGR)连锁的AFLP分子标记对非洲狼尾草和蒺藜草属植物*Cenchrus ciliaris*进行原位杂交实验发现, 其中的一个AFLP标记与无孢子生殖的胚囊发生了重组。这个标记在非洲狼尾草中位于携带ASGR的染色体上, 且靠近着丝粒; 却不位于*C. ciliaris*的携带ASGR的染色体。

李海英等<sup>[27]</sup>采用mRNA差异展示技术对甜菜无融合生殖品系“M14”和正常有性生殖的二倍体栽培甜菜“A<sub>2Y</sub>”花蕾减数分裂时期的基因表达进行了差异分析, 采用GT<sub>15</sub>A、GT<sub>15</sub>G、GT<sub>15</sub>C 3种锚定引物, 共筛选了20个随机引物, 通过RT-PCR检测, 获得6个阳性差异表达的cDNA片段。

禾本科臂形草属植物*Brachiaria brizantha*是一种在巴西种植的牛饲料, Alves等<sup>[39]</sup>对肌球蛋白、水通道蛋白(aquaporin)和有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase) 3个cDNA序列在有性生殖子和无融合生殖种子中的差异表达进行了分析, 结果发现, 肌球蛋白主要在没有融合和有性生殖胚囊中表达, 在蓼型胚囊中表达晚一些; 水通道蛋白和有丝分裂原活化蛋白激酶主要在没有融合生殖的大黍型胚囊中表达; 有丝分裂原活化蛋白激酶在助细胞中表达, 水通道蛋白在胚珠不同细胞中表达。

戈岩等<sup>[40]</sup>对无融合生殖的甜菜品系“M14”进行GISH和BAC-FISH分析, 发现供试探针均被定位于附加的白花甜菜第9号染色体长臂末端, 呈半

合子状态。结合两种生殖途径中胚和胚乳发育表达方式的保守性可推断,甜菜中有性生殖和无融合生殖可能共享某些调节因子的相关路径。

**2.3 流式细胞仪在无融合生殖中的应用** 流式细胞仪能直接测定细胞中DNA的含量,可快速准确地鉴定出植株的染色体倍性,因此被广泛地用于无融合生殖的研究。例如,为进一步了解欧洲中部的四倍体和多倍体*Pilosella officinarum*的细胞地理学差异,Mraz等<sup>[41]</sup>采用流式细胞仪和染色体计数法对来自捷克斯洛伐克共和国、斯洛伐克和匈牙利东北部共336个地方的1 059株*P. officinarum*进行了DNA倍性水平和染色体数量鉴定分析,统计结果显示,在捷克斯洛伐克共和国西部分布最广泛的类型是有性繁殖的四倍体,而无融合生殖的五倍体和多数无融合生殖的六倍体则分布在斯洛伐克和捷克斯洛伐克共和国的东部。

山楂属(*Crataegus*)中既有无融合生殖的多倍体植物又有有性生殖的二倍体植物,因此在分类学上较为复杂。Talent等<sup>[42]</sup>采用流式细胞技术以期弄清无融合生殖发生的频率,多倍性、杂交与无融合生殖之间的关系。流式细胞仪DNA计量法推进了染色体倍性水平确定的效率,能测定野生群体的细胞学变化。同时流式细胞仪能揭示成熟种子胚和胚乳的倍性水平,从而可知胚囊是否未经减数分裂。研究表明:在山楂属中,二倍体或四倍体减数分裂产生的精子有一半能授精无融合生殖三倍体和四倍体产生的未经减数分裂的卵细胞,产生多倍体后代。

此外,Kao<sup>[43]</sup>用流式细胞仪对*Arnica cordifolia*的混合细胞型种群的成株和种子进行研究,确定了生殖方式,并评估了细胞型的频率与繁育成功之间的关系。Wieners等<sup>[44]</sup>采用流式细胞仪对草地早熟禾(*Poa partensis*)叶片和成熟种子的DNA含量进行了分析,并对每份种质的生殖方式作了鉴定。

### 3 植物无融合生殖遗传机制的研究

对无融合生殖遗传机制的研究,在不同植物中表现出不同的结果。目前主要有两种观点:一种认为植物无融合生殖是由单基因控制的;另一种认为植物无融合生殖是由多基因控制的。近几年的研究进一步证实了不同植物中控制无融合生殖的基因数目不同这一结论。例如,Iudakova等<sup>[45]</sup>对无融合生殖的草地早熟禾的胚形成早期进行了观察,在孤雌生殖的转变期即开始产生胚时,也发现了有性生殖胚的发育。这说明控制胚产生的基因在有性生殖和

无融合生殖是相同的。而Barcaccia等<sup>[44]</sup>对兼性无融合生殖的贯叶连翘进行研究,发现种子中既有由孤雌生殖产生,也有由无孢子生殖产生的,说明无孢子生殖和孤雌生殖是由不同的遗传因子控制的。另外,对*Pennisetum squamulatum* Fresen和*Cenchrus ciliaris* L.两种无融合生殖植物的研究发现,它们进行无孢子生殖,由珠心细胞形成四核胚囊,未减数分裂的卵细胞通过孤雌生殖发育,而胚乳的发育需中央细胞受精。尽管这两个物种的无孢子生殖背离了孟德尔遗传方式,但染色体上大而非重组的区域却被遗传下来,表明多基因为无孢子生殖所必需<sup>[46]</sup>。

总之,无融合生殖具有复杂的遗传机制,近期的遗传报道认为无融合生殖受主导基因控制;无融合生殖位点位于遗传因子受阻的区域,通常与配子体或合子的毁坏或受其他机制影响其表达有关<sup>[47]</sup>。

### 4 与无融合生殖相关基因的研究

无融合生殖涉及多种基因之间不同时空表达的互作和协调抑制,因此从无融合生殖材料中克隆那些控制有性生殖和无融合生殖性状的基因,是一项十分艰巨的工作;但目前利用突变体和多种分子生物学方法已成功分离、克隆和鉴定了一些涉及胚胎孤雌生殖、减数分裂过程的中断和改变、胚和胚乳的自发形成等可能与无融合生殖过程有关的基因,如与胚发育相关的*rolB*基因、*PGA6/WUS*基因、*BBM*基因、*SERK*类基因和*LEC*类基因;与胚乳发育相关的*FIS*类基因、*MSI1*基因;与减数分裂相关*SWI1*基因、*SPL/NZZ*基因<sup>[7,11]</sup>。

*Paspalum simplex*是雀稗属的一种植物,利用原位杂交技术进行分析,结果发现*P. simplex*的无融合生殖相关基因区段位于异染色质不丰富的区域(heterochromatin-poor region),与着丝粒有一段距离。进一步对该区域进行分析表明,该区域含有两个基因,在水稻中与这两个基因同源的基因位于水稻12号染色体的长臂的端粒区段,这就表明*P. simplex*的无融合生殖位点与水稻中的相关区域具有共线性。利用水稻作为有性生殖的代表,序列比较分析表明,*P. simplex*的该区段由于转座因子发生了大规模的重排,由缺失和单位点突变引起的小规模的重排;与水稻的同源基因相比,这两种类型的重排导致无融合生殖基因大部分编码序列失去编码能力,说明*P. simplex*中超数基因(supernumerary genes)的重排在无融合生殖中的作用。这也表明,可以利用水稻的基因组信息进行无融合生殖基因的

克隆<sup>[48]</sup>。

此外, Okada等<sup>[12]</sup>通过农杆菌介导法将 *loa1* (*loss of apomeiosis 1*) 基因导入无融合生殖植物 *Hieracium aurantiacum* 的基因组, 结果发现, 转化植株失去形成无融合生殖种子的能力, 表明 *loa1* 的缺失与无融合生殖的起始有关。

## 5 小结与展望

由于无融合生殖相当的复杂, 故目前的研究仍存在很多的问题: 如对无融合生殖现象的认识仍局限在细胞胚胎学发生上, 其遗传机制的许多问题尚未清楚地阐明; 无融合生殖受多位点多基因控制, 涉及多种基因之间不同时空表达的互作和协调抑制, 而目前还只有少数与无融合生殖相关的基因被分离鉴定出来; 采用诱变和杂交等方法向农作物引入无融合性状, 虽然有了一些进展, 但由于不了解其遗传生理机制, 所获的植株无融合生殖不稳定, 等等。因此, 若想实现无融合生殖在作物育种上的应用成功, 尚需胚胎学、细胞学、遗传学、分子生物学等多方面的协同工作, 从以下几方面展开深入的研究:

(1) 对现有的无融合生殖种质资源进行深入研究, 以期找到稳定的或可人工控制的无融合生殖材料, 研究其遗传机制, 从中找出控制无融合生殖的基因, 然后定位、克隆无融合生殖基因, 为利用无融合生殖固定杂种优势开辟新的途径。

(2) 在发掘新的无融合生殖种质时, 要从各个水平进行全面的, 并和有性生殖进行比较, 这样才能得出准确、可靠和符合实际情况的结论。此外, 在寻找新的无融合生殖基因资源的同时也要注意提高现有无融合生殖材料的发生频率, 为植物育种提供充足的试验材料, 加速无融合生殖固定杂种优势进程, 实现通过遗传操作手段改变植物生殖方式的设想。

(3) 通过栽培作物和无融合生殖的近缘野生种进行杂交、体细胞杂交及染色体加倍等技术, 把无融合生殖的基因转入作物中, 获得新的具有无融合生殖特性的材料, 为作物无融合生殖育种提供种质资源。

(4) 深入揭示和比较无融合生殖和有性生殖的大孢子发生, 雌配子体形成期间的结构和代谢过程, 无融合生殖和环境因子的关系。充分了解无融合生殖的诸方面, 以期达到加快对控制无融合生殖基因的认识和转移技术的开拓, 实现应用无融合生殖改良作物创造新品种的目的。

(5) 遗传学的研究表明无融合生殖是受基因控制的遗传性状; 但依物种和其所属无融合生殖类型而有不同, 无融合生殖机制及控制无融合生殖的基因数目亦有变化。因此, 对无融合生殖遗传机理和基因表达进行深入研究, 弄清控制无融合生殖的基因数目及其显隐性、无融合生殖胚囊发育的途径、在一些专性无融合生殖植物中有性生殖的保留、无融合生殖发育过程中的许多转变机制、胚乳的自发发育和假受精等问题, 才能真正的揭开无融合生殖之谜。

## [参 考 文 献]

- [1] Spillane C, Curtis MD, Grossniklaus U. Apomixis technology development- virgin births in farmers' fields? Nat Biotechnol, 2004, 22(6): 687-91
- [2] 王志伟, 李荣田, 郭德栋. 植物无融合生殖研究进展. 中国生物工程杂志, 2004, 24(6): 34-7, 42
- [3] Koltunow AM, Grossniklaus U. Apomixis: A developmental perspective. Annu Rev Plant Biol, 2003, 54: 547-74
- [4] Bicknell RA, Koltunow AM. Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums. Plant Cell, 2004, 16: S228-45
- [5] Ozias-Akins P, van Dijk PJ. Mendelian genetics of apomixis in plants. Annu Rev Genet, 2007, 41: 509-37
- [6] Ozias-Akins P. Apomixis: Developmental characteristics and genetics. CRC Crit Rev Plant Sci, 2006, 25(2): 199-214
- [7] 胡龙兴, 王兆龙. 植物无融合生殖相关基因研究进展. 遗传, 2008, 30(2): 155-63
- [8] 马三梅, 王永飞, 叶秀彝, 等. 植物无融合生殖的遗传机理和分子机理的研究进展. 遗传, 2002, 24(2): 197-9
- [9] 马三梅, 王永飞, 叶秀彝, 等. 人工创造植物无融合生殖的研究进展. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(5): 131-5
- [10] 马三梅, 王永飞, 叶秀彝, 等. 植物无融合生殖鉴定方法的研究进展. 西北植物学报, 2002, 22(4): 985-92
- [11] 马三梅, 王永飞. 植物无融合生殖相关基因的研究进展. 种子, 2005, 24(10): 42-3, 68
- [12] Okada T, Catanach AS, Johnson SD, et al. An *Hieracium* mutant, *loss of apomeiosis 1 (loa1)* is defective in the initiation of apomixis. Sex Plant Reprod, 2007, 20(4): 199-211
- [13] 黄群策. 禾本科植物无融合生殖的研究进展. 武汉植物学研究, 1999, 17(增刊): 39-44
- [14] Barcaccia G, Arzenton F, Sharbel TF, et al. Genetic diversity and reproductive biology in ecotypes of the facultative apomict *Hypericum perforatum* L. Heredity, 2006, 96(4): 322-34
- [15] Cardone S, Polci P, Selva JP, et al. Novel genotypes of the subtropical grass *Eragrostis curvula* for the study of apomixis (diplospory). Euphytica, 2006, 151(2): 263-72
- [16] Garcia MV, Balatti PA, Arturi MJ. Genetic variability in natural populations of *Paspalum dilatatum* Poir. analyzed by means of morphological traits and molecular markers. Genet Resour Crop Evol, 2007, 54(5): 935-46
- [17] Acuna CA, Blount AR, Quesenberry KH, et al. Reproductive characterization of bahiagrass germplasm. Crop Sci,

- 2007, 47(4): 1711-7
- [18] Gotelli M, Galati B, Hoc P. Embryology of *Macroptilium arenarium* (Leguminosae). Aust J Bot, 2006, 54(6): 531-42
- [19] Houliston GJ, Chapman HM, Bicknell RA. The influence of genotype and environment on the fecundity and facultative expression of apomixis in *Hieracium pilosella*. Folia Geobot, 2006, 41(2): 165-81
- [20] Zeng QW, Zhang DX, Gao ZZ, et al. Facultative apomixis in an endangered dioecious species, *Woonyoungia septentrionalis* (Magnoliaceae). Acta Bot Sin, 2003, 45(11): 1270-3
- [21] Yao JL, Yang PF, Hu CG, et al. Embryological evidence of apomixis in *Eulaliopsis binata*. Acta Bot Sin, 2004, 46(1): 86-92
- [22] Yao JL, Zhou Y, Hu CG. Apomixis in *Eulaliopsis binata*: characterization of reproductive mode and endosperm development. Sex Plant Reprod, 2007, 20(3): 151-8
- [23] 张鹏飞, 刘亚令, 张燕, 等. 核桃无融合生殖现象及其矿质营养变化研究. 安徽农业科学, 2006, 34(10): 2032-3
- [24] Huang YM, Chou HM, Hsieh TH, et al. Cryptic characteristics distinguish diploid and triploid varieties of *Pteris fauriei* (Pteridaceae). Can J Bot, 2006, 84(2): 261-8
- [25] Agharkar M, Lomba P, Altpeter F, et al. Stable expression of *AtGA2ox1* in a low-input turfgrass (*Paspalum notatum* Flugge) reduces bioactive gibberellin levels and improves turf quality under field conditions. Plant Biotechnol J, 2007, 5(6): 791-801
- [26] 冯辉, 翟玉莹. 韭菜多胚苗及其与无融合生殖关系的研究. 园艺学报, 2007, 34(1): 225-6
- [27] 李海英, 马春泉, 于冰, 等. 利用mRNA差异显示技术分离甜菜M14品系特异表达基因的cDNA片段. 植物研究, 2007, 27(4): 465-8
- [28] 李春秋. 不同化学药剂诱导玉米无融合生殖的研究. 核农学报, 2006, 20(1): 36-9
- [29] Ravi M, Marimuthu MPA, Siddiqi I. Gamete formation without meiosis in *Arabidopsis*. Nature, 2008, 451(7182): 1121-4
- [30] 申业, 申家恒, 郭德栋, 等. 甜菜无融合生殖单体附加系M14雌配子体的发生与发育. 武汉植物学研究, 2006, 24(2): 106-12
- [31] 申业, 申家恒, 郭德栋, 等. 甜菜单体附加系M14无融合生殖的细胞胚胎学研究. 西北植物学报, 2006, 26(5): 957-63
- [32] 申业, 申家恒, 郭德栋, 等. 甜菜无融合生殖单体附加系M14大孢子发生期间细胞壁胼胝质的变化. 作物学报, 2006, 32(6): 894-8
- [33] Guan LM, Chen LZ, Terao H. Ultrastructural studies of gametophytic apomicts in guinea grass (*Panicum maximum*) II. Characteristics of aposporous initial cell-derived embryo sac. Cytologia (Tokyo), 2007, 72(2): 145-53
- [34] Akiyama Y, Goel S, Chen ZB, et al. *Pennisetum squamulatum*: Is the predominant cytotype hexaploid or octaploid? J Hered, 2006, 97(5): 521-4
- [35] 刘传虎, 张秋平, 姚家玲, 等. 龙须草核型分析和花粉母细胞减数分裂的细胞学研究. 中国农业科学, 2007, 40(1): 27-33
- [36] 刘传虎, 周兆喜, 周云, 等. 不同居群龙须草RAPD分析及其分类研究. 西北植物学报, 2006, 26(5): 915-20
- [37] Espinoza F, Daurelio LD, Pessino SC, et al. Genetic characterization of *Paspalum notatum* accessions by AFLP markers. Plant Syst Evol, 2006, 258(3-4): 147-59
- [38] Goel S, Chen ZB, Akiyama Y, et al. Comparative physical mapping of the apospory-specific genomic region in two apomictic grasses: *Pennisetum squamulatum* and *Cenchrus ciliaris*. Genetics, 2006, 173(1): 389-400
- [39] Alves ER, Carneiro VTC, Dusi DMA. In situ localization of three cDNA sequences associated with the later stages of aposporic embryo sac development of *Brachiaria brizantha*. Protoplasma, 2007, 231(3-4): 161-71
- [40] 戈岩, 何光存, 王志伟, 等. 无融合生殖甜菜M14的GISH和BAC-FISH研究. 中国科学: C辑, 2007, 37(2): 209-16
- [41] Mraz P, Singliarova B, Urfus T, et al. Cytogeography of *Pilosella officinarum* (Compositae): altitudinal and longitudinal differences in ploidy level distribution in the Czech Republic and Slovakia and the general pattern in Europe. Ann Bot (Lond), 2008, 101(1): 59-71
- [42] Talent N, Dickinson TA. Apomixis and hybridization in Rosaceae subtribe *Pyrinae Dumort*: a new tool promises new insights. Regnum Veg, 2007, 147: 301-16
- [43] Kao RH. Asexuality and the coexistence of cytotypes. New Phytol, 2007, 175(4): 764-72
- [44] Wieners RR, Fei SZ, Johnson RC. Characterization of a USDA Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) core collection for reproductive mode and DNA content by flow cytometry. Genet Resour Crop Evol, 2006, 53(8): 1531-41
- [45] Iudakova OI, Shakina TN. Specific features of early embryogenesis in apomictic *Poa pratensis* L. Ontogenez, 2007, 38(1): 5-11
- [46] Ozias-Akins P, Conner JA, Goel S, et al. Genes linked with apomixis: identification and characterization. Regnum Veg, 2007, 147: 117-24
- [47] 殷朝珍, 王兆龙, 葛才林. 草地早熟禾无融合生殖及其育种利用研究进展. 草原与草坪, 2006(1): 18-23
- [48] Calderini O, Chang SB, de Jong H, et al. Molecular cytogenetics and DNA sequence analysis of an apomixis-linked BAC in *Paspalum simplex* reveal a non pericentromere location and partial microcolinearity with rice. Theor Appl Genet, 2006, 112(6): 1179-91