

雌雄异株植物性别鉴定的研究进展

李瑞丽, 卢龙斗, 高武军, 李书粉, 王琼

(河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007)

摘要: 雌雄异株植物为研究植物的性别决定和进化提供了一个模式体系, 由于不同性别的植物具有不同的经济价值, 所以其性别鉴定的研究不仅具有重要的理论意义, 而且具有极为重要的实践价值。从外部形态、生理生化指标、染色体组型、同工酶、特异蛋白质分子、分子标记等方面, 对近 15 年来国内外有关雌雄异株植物性别鉴定研究的进展作了总结, 并对各种鉴定方法的优缺点进行了评价, 同时对其研究发展趋势作了展望。

关键词: 同工酶; 雌雄异株; 性别鉴定

中图分类号: Q945.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)04-0387-05

Advances in sex identification of dioecious plants

LI Rui-li, LU Long-dou, GAO Wu-jun, LI Shu-fen, WANG Qiong

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Dioecious plants are playing an important role in elucidating the mechanism of plant sex determination and evolution. The studies of sex identification is of great significance both in theory and practice. This paper reviewed the research progress in recent fifteen years based on morphological, physiological, biochemical and molecular biological methods. Meanwhile, comments and prospectives were also given.

Key words: isoenzyme; dioecious; sex identification

自然界被子植物大多是雌雄同株, 雌雄异株植物仅占 6% (Renner 等, 1995)。由于雌雄异株植物在植物性别决定尤其是性染色体进化研究中具有重要地位 (Ioan 等, 2001; Ainsworth 等, 1998), 且不同性别植物往往有不同的经济价值, 如果以种子和果实为收获对象, 则需大量的雌株, 而以营养器官生长为主的绿化林木有时雄株具更高的经济价值。因此, 研究雌雄异株植物性别及其鉴定在理论与实践中都具有重要意义。早在上世纪 50 年代初波兰学者 Bugala (1951) 首先通过叶色鉴定了欧洲山杨 (*Populus tremula*) 的性别。但通过外部形态来鉴定植物性别的方法不够准确, 且对某些植物而言, 在性器官分化和发育成熟前, 其雌雄株的形态差异往往不明显, 所以不能作为植物性别早期鉴定的可靠依据。近年来发展了从细胞、生化和分子等不同水平上对雌雄异株植物的性别鉴定进行研究的方法, 本文对

近 15 年来国内外有关这方面的研究进行了综述。

1 生理生化差异鉴定植物性别

此方法主要是通过对植物代谢过程中某些酶的活性、次生代谢物质及内源激素含量水平等的分析来鉴定植物性别。Jaiswal 等 (1984) 研究了番木瓜 (*Carica papaya*) 无性组织和生殖组织的酸性和碱性磷酸酶活力, 发现其雄性中酶活力高于雌性。以高效液相色谱 (HPLC) 法分析银杏 (*Ginkgo biloba*)、杨梅 (*Myrica rubra*) 等树种叶片中水溶性酚类物质时发现: 雌株体内此类物质的含量均普遍高于雄株 (李国梁等, 1993)。王白坡等 (1999) 分析了银杏雌雄株芽尖及叶片中内源激素含量, 结果表明, 在整个生长季节雌株芽尖中 GA3 和 ZT 的平均含量比雄株高 20% 以上; 而 IAA 和 ABA 却相反, 雄

收稿日期: 2005-04-14 修回日期: 2005-10-24

基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (30370864) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30370864)]

作者简介: 李瑞丽 (1981-), 女, 河南淮阳人, 在读硕士生, 从事雌雄异株植物性别分化机理研究。

株高于雌株,证实了成年银杏不同性别间内源激素水平存在一定差异。另外,通过对植株体内的维生素含量(赵云云等,1991)、光合能力以及蒸腾速率(蔡汝等,2000)等生理生化指标也可以用来鉴定雌雄异株植物的性别。虽然生理生化指标在一定情况下可用来鉴定雌雄异株植物的性别,但由于这些指标的测定易受环境因素及植物生长发育不同时期的影响,对鉴别结果的可靠性有一定的干扰。所以,此方法可作为一种粗略的鉴别方法。

2 染色体组型鉴定植物性别

染色体形态特征是进行植物雌雄性别鉴定的重要指标之一,也是最直接的遗传学证据,尤其是具明显异型性染色体的物种白麦瓶草(*Silene latifolia*)的性染色体中Y染色体比X染色体大数倍,X与Y染色体的同源区域只占染色体长度的很少一部分,其余为假同源区(Charles等,1999)。Newcomer(1954)通过对银杏的染色体进行观察后发现大染色体存在二型性,并推测这种二型染色体与银杏的性别决定有关。李正理(1959)及Pollock(1957)的研究结果表明,银杏雌雄株的染色体具有形态上的不同,雌株4条染色体上有随体,而雄株只有3条染色体上有随体。在雄株中的1对最短具次端部着丝粒的染色体中,只有其中的1条染色体上出现随体,因而认为这对染色体即为性染色体,并提出银杏的性别决定机制属XY型,这与陈瑞阳(1982)认为银杏的性别决定机制属WZ型的结论不一致。陈学森等(1996)研究结果与李正理的结论完全一致,但同时发现雌株第10对亚中部着丝粒染色体长臂上各有1个随体,而雄株第10对亚中部着丝粒染色体长臂上仅有1个随体,属异型染色体。因此,第10对亚中部着丝粒染色体可能为性染色体。由此可见,通过染色体组型来鉴定雌雄异株植物的性别,只是对白麦瓶草、香榧(*Torreya grandis* cv. *Merrillii*) (管启良等,1993)等这类具明显异型性染色体的物种有效外,对于一些不具明显性染色体或性染色体差异不大的物种来说有一定的局限性(Loptien,1979)。

3 同工酶差异鉴定植物性别

酶是基因表达的直接产物,同工酶谱的器官组织特异性也反映了基因表达的特异性。目前与性别

分化有关的同工酶研究大多集中在过氧化物酶同工酶在雌雄器官中的差异研究。早在1972年,Penel等就注意到菠菜(*Spinacia oleracea*)的性别差异与过氧化物酶同工酶的数目有关。范双喜等(1995)对石刁柏(*Asparagus officinalis*)雌雄株过氧化物酶同工酶(POD)进行了研究。结果表明雄株均比相应的雌株少一条酶带,说明石刁柏性别差异与过氧化物酶同工酶的数目有关,过氧化物酶同工酶谱的差异可以作为性别鉴定的指标。赵云云等(1996)对构树(*Broussonetia papyrifera*)性别与过氧化物酶同工酶的关系研究表明,雌株酶活性高于雄株。另外在银杏、杨梅、猕猴桃(*Actinidia chinensis*)、黑枣(*Diospyros lotus*)、番木瓜等中也有过类似的报道(钟海文等,1982;李国梁等,1995;丁士林等,1997;赵云云等,1991;Sriprasert等,1988)。这种过氧化物酶同工酶与雌性植株性别相关性的原因可能与其促进乙烯的释放有关(应振土等,1990)。

另外,细胞色素氧化酶同工酶在银杏和黑枣(赵云云等,1991)、酯酶同工酶在银杏及超氧化物歧化酶在葡萄性别鉴定上有报道(陈学森等,1997;张立平等,1998)。由于品种差异及同工酶的组织特异性等原因,在对某一种植物进行早期性别鉴定时,应考虑取材的代表性和一致性。所以,对于把同工酶酶谱或活性作为植物鉴别的依据还需更深入的研究。

4 特异蛋白质分子鉴定植物性别

性别分化特异蛋白质的研究对揭示性别分化程序表达的机理非常重要。在二十世纪90年代初,Bracale等(1990)和Caporali等(1994)在石刁柏上进行了性别分化特异蛋白质的初步研究。汪俏梅等(1998)用毛细管电泳技术研究了苦瓜(*Momordica charantia*)性别分化期间的蛋白质,发现了一些与苦瓜性别分化相关的特异蛋白质,于凤池等(2003)对栝楼(*Trichosanthes kirilowii*)性别分化典型发育时期的雌、雄花的可溶性蛋白进行了电泳分析,发现在栝楼的性别分化过程中,一些蛋白质在性别分化的某个特定时期出现或消失,这些性别分化的特异蛋白很可能在性别分化中发挥重要作用,进一步的工作需对已经观察到的性别分化特异蛋白质进行分离、纯化,并对其进行结构和功能分析,以揭示它们在栝楼性别分化中的真正作用。此外,从番木瓜、阿月浑子(*Pistacia vera*)、芸苔(*Brassica*)等中也分

离出与性别分化有关的蛋白质(Nandi 等,1990;Gol-an-goldhirsha 等,1998;Furuyama 等,1999)。

5 分子标记鉴定植物性别

5.1 RAPD 标记

RAPD 标记是二十世纪 90 年代初在 PCR 的基础上发展起来的随机扩增的 DNA 多态性分析。由于

其操作简便,所需 DNA 量较少等优点,近十年来,它在植物性别分化和鉴定研究中已广泛应用(表 1)。

目前,利用 RAPD 技术从雌雄异株植物扩增出的性别特异性片段大小一般在 150~2 500bp 之间,而且这些标记大多是雄性特异性的,对于那些有明确性染色体的物种来说,此标记可能是与雄性相连锁的,因为雄性一般是异型染色体。但在那些性染色体还未鉴定的物种中,存在雄性连锁的标记表明

表 1 一些雌雄异株植物性别连锁的 RAPD 标记
Table 1 Sex-specific RAPD markers of dioecious plants

植物 Variety	随机引物序列 Random prime sequence	性别特异性标记大小 The length of sex-specific markers	文献 Reference
白麦瓶草 <i>Silene latifolia</i>	—	—	Mulcahy 等,1992
	GGGTAACGCC	590bp ♂ 810bp ♀	Verónica 等,1998
石刁柏 <i>Asparagus officinalis</i>	GACGGATCAG	300bp ♂ 980bp ♂	Jiang 等,1997
蒿柳 <i>Salix viminalis</i>	CTAGAGGCCG	354bp ♀	Alstrom 等,1998
	CTAGAGGCCG	549bp ♀	
	CTGGCTCAGA	1271bp ♀	Gunter 等,2003
猕猴桃 <i>Actinidia chinensis</i>	AGGAGTCGGA	300bp ♀	
	GACGCGAACC	770bp ♂	Gill 等,1998
滨藜 <i>Atriplex garrettii</i>	GGTGCGACT	2075bp ♂	Ruas 等,1998
番木瓜 <i>Carica papaya</i>	—	831bp ♂	Parasnis 等,2000
	TTGGCACGGG	450bp ♂	Urasaki 等,2002
大麻 <i>Cannabis sativa</i>	GTGACGTAGG	400bp ♂	Mandolino 等,1999
	GTTGGTGGCT	2 500bp ♂	陈其军等,2001
	TGAGCGGACA	961bp ♂	
	CTAGAGGCCG	151bp ♂	Ottó Törjék 等,2002
银杏 <i>Ginkgo biloba</i>	TGATCCCTGG	1 000bp ♂	王晓梅等,2001b
	CTGGTGCTGA	682bp ♂	
	CCGCATCTAC	434bp ♀	姜凌等,2003
罗汉松 <i>Podocarpus macrophyllus</i>	GTGGTCCGCA	750bp ♀	CAI Liang 等,2002
阿月浑子 <i>Pistacia vera</i>	GTGACGTAGG	945bp ♀	Hormaza 等,1994
	CCTCCAGTGT	700bp ♂	谭冬梅等,2003
	CCTCCAGTGT	905bp ♀	Yakubov 等,2005
酸模 <i>Rumex acetosa</i>	GGTGATCAGG	925bp ♂ 596bp ♂	Korpelainen 等,2002
山旋 <i>Mercurialis annua</i>	GTTTCGCTCC	1562bp ♂	
	GTCCCGACGA	303bp ♂	Khadka2002
杜仲 <i>Eucommia ulmoides</i>	—	569bp ♀	Xu WJ 等,2004

该物种存在性染色体或者是此标记是与性别决定基因紧密连锁的。雌性连锁的分子标记已在蒿柳(*Salix viminalis*)、猕猴桃等中有过描述,推测该标记与雌性决定基因紧密连锁,或者它就是 X 染色体从父本遗传下来的序列(Charles,2000)。用 RAPD 技术筛选出的这些与植物性别相关的分子标记,可用于植物的早期性别鉴定,同时该标记的获得为进一步克隆与植物性别相关的基因奠定了基础。由于 RAPD 标记稳定性不够,且大多为共显性标记,所以在获得 RAPD 标记后,一般将其转化为 SCAR 标记,才能在实践中得到较好的应用(Zhang 等,1998;

Jiang 等,1997;Parasnis 等,2000;陈其军等,2001)。

5.2 AFLP 标记

近年来,AFLP 指纹技术也已广泛用于雌雄异株植物的性别特异性标记的研究。Terauchi 等(1999)在构建 *Dioscorea tokoro* 的遗传图谱时,发现 10 个 AFLP 标记位于性染色体上;Spada 等(1998)在研究石刁柏时发现与性别决定位点距离仅 3.2cM 的 AFLPsv 标记。随后,Reamon 等(2000)也在石刁柏中获得 9 个与性别位点连锁的 AFLP 标记,其中三个与性别决定位点紧密连锁,这些标记能够对雌雄植株进行鉴定;Tracey 等(2004)在金毛

榕(*Ficus fulva*)中获得了一个雄性特异性 246bp 的 AFLP 片段,但转换成的 SCAR 标记却可在雌雄株中均扩增出相等大小的片段,分析之所以如此,推测与此标记片段含有的重复序列的拷贝数有关。Stehlik 等(2004)在酸模叶蓼(*Rumex nivalis*)中获得一 164bp 雄性特异性 AFLP 片段,并将其转化为 SCAR 标记,此标记是串联重复的非编码 DNA。由于非编码的重复序列不易受选择压力的影响,其进化过程中变异的累积可以为性别分化的研究提供丰富的多态性标记。此外,在酸模、猕猴桃、银杏、大麻中均找到了性别特异性的 AFLP 标记,可用于雌雄异株植物的性别鉴定(Charles 等,1999; Zhang 等,1999; 王晓梅等,2001b; Peil 等,2003)。

此外,微卫星标记也可以用于雌雄异株植物的性别鉴定。Parasnis 等(1999)用微卫星(GATA)4 探针鉴定了番木瓜 1 个 5Kb 的特异带仅出现在雄株中,表明微卫星(GATA)_n可以鉴别其性别。

6 展望

植物雌雄株间的差异归根结底是 DNA 分子之间的差异,利用分子生物学技术在 DNA 分子水平上去研究雌雄株之间的差异性,从中找到鉴别雌雄株的特异性 DNA 片段,对此进行测序,进而制备 DNA 探针,使得人们在幼苗期就能够对植物雌雄株的性别进行鉴定。随着分子生物学技术的日益发展,分子生物学鉴定将成为一种可靠的鉴别途径,也可能是最终解决植物性别鉴定的最好方法。

参考文献:

- 陈瑞阳, 宁文芹, 李秀兰. 1982. 银杏性染色体研究[M]:21-29.
- 蔡汝, 陶俊, 陈鹏. 2000. 银杏雌雄株叶片光合特性、蒸腾速率及产量的比较研究[J]. 落叶果树, 32(1):14-16.
- Ainsworth C, Parker J, Buchanan-Wollaston V. 1998. Sex determination in plants[J]. *Curr Top Dev Biol*, 38:167-223.
- Alstrom R C, Lascoux M, Wand Y C, et al. 1998. Identification of a RAPD marker linked to sex determination in the basket willow(*Salix viminalis* L.)[J]. *J Heredity*, 89:44-49.
- Buggala W. 1951. Sex determination of poplars from the color of leaves[J]. *For Abstr*, 52:13.
- Bracale M, Galli M G, Falavigna A. 1990. Sex differentiation in *Asparagus officinalis* L. total and newly synthesized proteins in male and female flowers[J]. *Sex Plant Report*, 3:23-30.
- Cai L, Tian X C, Li M, et al. 2002. Application of RAPD in discrimination of *Podocarpus macrophyllus*'s sex[J]. *J Fudan Univ*, 41(6):635-640.
- Caporali E, carboni A, Galli M G. 1994. Development of male and female flower in *Asparagus officinalis* [J]. *Sex Plant Rep*, 7:239-249.
- Charles Ainsworth. 2000. Boys and girls come out to play: The molecular biology of dioecious plants[J]. *Annals Bot*, 86:211-221.
- Charles C Ainsworth, Jianping Lu, Mark Winfield, et al. 1999. Sex determination by X; autosome dosage; *Rumex acetosa* (sorrel)[J]. *Sex Determination in Plants*, 121-136.
- Charles P Scutt, Shona E Robertson, Malcolm E Willis. 1999. Molecular approaches to the study of sex determination in dioecious *Silene latifolia*[J]. *Sex Determination in Plants*, 51-71.
- Chen XC(陈学森), Deng XX(邓秀新), Zhang WC(章文才), et al. 1996. Preliminary report on the chromosome number and karyotype of variety resources of *Ginkgo biloba* in China (中国银杏品种资源染色体数及其研究初报)[J]. *J Huazhong Agric Univ*(华中农业大学学报), 15(6):590-594.
- Chen XS(陈学森), Deng XX(邓秀新), Zhang WC(章文才). 1997. Studies on the karyotype and early verification of the female and male plants of *Ginkgo biloba* (银杏雌雄株核型及性别早期鉴定)[J]. *J Fruit Sci*(果树科学), 14(2):87-90.
- Chen QJ(陈其军), Han YZ(韩玉珍), Fu YF(傅永福), et al. 2001. RAPD and SCAR molecular markers of sexuality in the Dioecious(大麻性别的 RAPD 和 SCAR 分子标记)[J]. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报), 27(2):173-178.
- Ding SL(丁士林), Zhu XZ(朱秀珍), Hong Z(洪泽). 1997. Studies on peroxidase isoenzyme of yangtao, *Actinidia chinensis* (猕猴桃过氧化物同工酶研究)[J]. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), 24(4):395-397.
- Fan SX(范双喜), Song XF(宋学锋). 1995. Relationship between sex and isozymes of peroxidase in *Asparagus* plants (石刁柏性别表现与同工酶的关系)[J]. *Acta Agric Borczli-Sin*(华北农学报), 10(2):67-71.
- Furuyama T, Dzelzkalns V A. 1999. A novel calcium-binding protein is expressed in *Brassica* pistils and anthers late in flower development[J]. *Plant Molecular Biology*, 39(4):729-737.
- Gill G P, Harvey C F, Gardner R C, et al. 1998. Development of sex-linked PCR markers for gender identification in *Actinidia*[J]. *Theor Appl Genet*, 97(3):439-445.
- Golan-goldhirsha, Pfiirena, Birk yehudith. 1998. Inflorescence bud proteins of *Pistacia vera*[J]. *Trees*, 12(7):415-419.
- Guan QL(管启良), Yuan MB(袁妙葆), Yu ZL(俞仲轲). 1993. Early discrimination of karyotype and sexuality for Chinese *Torreya*(香榧的核型和性别的早期鉴别)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), 29(5):389-392.
- Gunter L E, Roberts G T, Lee K. 2003. The development of two flanking SCAR markers linked to a sex determination locus in *Salix viminalis*[J]. *J Hered*, 94(2):185-189.
- Helena korpelainen. 2002. A genetic method to resolve gender complements investigations on sex ratios in *Rumex acetosa* [J]. *Molecular Ecology*, 11:2151-2156.
- Hormaza J I, Dollo L. 1994. Identification of a RAPD marker linked to sex determination in *Pistacia vera* using bulked segregant analysis[J]. *Theor Appl Genet*, 89:9-13.
- Ioan Negrutiu, Boris Vyskot, Nicolae Barbacar. 2001. Dioecy

- cious plants. A key to the early events of sex chromosome evolution[J]. *Plant Physiol*, **127**:1 418—1 424.
- Jaiswal V S, Prapat Narayan, Madan Lal. 1984. Activities of acid and alkaline phosphatases in relation to sex differentiation in *Carica papaya*[J]. *Biochem Physiol Pflanzen*, **179**: 799—801.
- Jiang C, Sink K C. 1997. RAPD and SCAR markers linked to the sex expression locus *M* in asparagus[J]. *Euphytica*, **94**: 329—333.
- Jiang L(姜凌), You RL(尤瑞麟), Li MX(李懋学), et al. 2003. Identification of a sex-associated RAPD marker in *Ginkgo biloba*(银杏性别相关分子标记)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **45**(6):742—747.
- Khadka D K, Nejidat A, Tal M, Golan-Goldhirsh A. 2002. DNA markers for sex: Molecular evidence for gender dimorphism in dioecious *Mercurialis annua* L [J]. *Molecular Breeding*, **9**:251—257.
- Li GL(李国梁), Lin BN(林柏年), Shen DX(沈德绪). 1993. Sex identification of horticultural dioecious plants by phenolics analysis(酚类物质在鉴别园艺雌雄性植物中的应用研究)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **20**(4):397—398.
- Li GL(李国梁), Lin BI(林伯年), Shen DX(沈德绪). 1995. Study on the sex identification of *Myrica rubra* L.(杨梅雌雄株同工酶和酚类物质的鉴别)[J]. *J Zhejiang Agric Univ*(浙江农业大学报), **21**(1):22—26.
- Li ZL(李正理). 1959. Recent advances(1949~1959) in morphology, anatomy and cytology of *Ginkgo biloba*(最近十年(1945~1959)关于银杏的形态解剖学及细胞学上的研究)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **8**(4):262—269.
- Loptien H. 1979. Identification of the sex chromosome pair in asparagus (*Asparagus officinalis* L.) [J]. *Z. Pflanzenzuchtg*, **82**:162—173.
- Mandolino G, Carboni A, Forapani S, et al. 1999. Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp(*Cannabis sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, **98**(1): 86—92.
- Mulcahy DL, Weeden NF. 1992. DNA probes for the Y-chromosome of *Silene latifolia*, a dioecious angiosperm[J]. *Sex Plant Reprod*, 86—88.
- Nandi A K, Mazumdar B C. 1990. Biochemical differences between male and female papaya (*Carica papaya* L.) trees in respect of total RNA and the histone protein level[J]. *Indian Biologist*, **22**(1):47—50.
- Newcomer E H. 1954. The karyotype and possible sex chromosome in *Ginkgo biloba* [J]. *Amer J Bot*, **41**:545—549.
- Ottó Törjék, Nándor Bucherna, Erzsébet Kiss, et al. 2002. Novel male-specific molecular markers (MADC5, MADC6) in hemp[J]. *Euphytica*, **127**(2):209—218.
- Parasnis A S, Gupta V S, Tamhankar S A. 2000. A highly reliable sex diagnostic PCR assay for mass screening of papaya seedlings[J]. *Molecular Breeding*, **6**:337—344.
- Parasnis A S, Ramakrishna W, Chowdari K V, et al. 1999. Microsatellite(GATA)n reveals sex-specific differences in papaya[J]. *Theor Appl Genet*, **99**(6):1 047—1 052.
- Peil A, Flachowsky H, Schumann E, et al. 2003. Sex-linked AFLP markers indicate a pseudoautosomal region in hemp(*Cannabis sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, **107**:102—109.
- Penel C L, Greppin H. 1972. Evolution of the auxin-oxidase and peroxidase activity during the spinach's photoperiodic induction and sexualisation[J]. *Plant Cell Physiol*, **13**(1): 151—156.
- Pollock E G. 1957. The sex chromosome of the maidenhair tree[J]. *J tree*, **48**(6):290—294.
- Reamon-Büttner, C Jung. 2000. AFLP-derived STS markers for the identification of sex in *Asparagus officinalis* L. [J]. *Theor Appl Genet*, **100**:432—438.
- Renner S S, Ricklefs R E. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants[J]. *Amer J Bot*, **82**:596—606.
- Ruas C F, Fairbanks D J, Evans R P, et al. 1998. Male-specific DNA in the dioecious species *Atriplex garrettii* (Chenopodiaceae)[J]. *Amer J Bot*, **85**(2):162—197.
- Spada A, Caporali E, Marziani G, et al. 1998. A genetic map of *Asparagus officinalis* based on integrated RFLP, RAPD and AFLP molecular markers[J]. *Theor Appl Genet*, **97**:1 083—1 089.
- Sriprasert P, Burikam S, Attathoms. 1988. Determination of cultivar and sex of papaya tissues derived from tissues derived from tissue culture[J]. *Kasetsart Journal*, **22**(5):24—29.
- Stehlik I, Blattner F R. 2004. Sex-specific SCAR markers in the dioecious plant *Rumex nivialis* (Polygonaceae) and implications for the evolution of sex chromosomes[J]. *Theor Appl Genet*, **108**:238—242.
- Tan DM(谭冬梅), Luo SP(罗淑萍), Li J(李疆), et al. 2003. Sex identification of *Pistachio* by using RAPD analysis(阿月浑子性别鉴定的 RAPD 分析)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **20**(2):124—126.
- Terauchi R, Kahl G. 1999. Mapping of the *Dioscorea tokoro* genome: AFLP markers linked to sex[J]. *Genome*, **42**(4): 752—762.
- Tracey L, Parrish, Hans P, et al. 2004. Identification of a male-specific AFLP marker in a functionally dioecious fig, *Ficus fulva* Reinw. ex Bl. (Moraceae)[J]. *Sex Plant Reprod*, **17**:17—22.
- Urasaki N, Tokumoto M, Tarora K, et al. 2002. A male and hermaphrodite specific RAPD marker for papaya (*Carica papaya* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, **104**:281—285.
- Verónica S, Di Stilio, Richard V, et al. 1998. A pseudoautosomal random amplified polymorphic DNA marker for the sex chromosomes of *Silene dioica* [J]. *Genetics*, **149**:2 057—2 062.
- Wang BP(王白坡), Cheng XJ(程晓建), Dai WS(戴文圣), et al. 1999. Seasonal variation of endogenous hormones and nucleic acids in female and male plants of *Ginkgo biloba*(银杏雌雄株内源激素和核酸的变化)[J]. *J Zhejiang Fore Coll*(浙江林学院学报), **16**(2):114—118.
- Wang QM(汪俏梅), Zeng GW(曾广文). 1998. Studies of specific protein on sex differentiation of *Momordica charantia*(苦瓜性别分化的特异蛋白质研究)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **40**(3):241—246.
- Wang XM(王晓梅), Song WQ(宋文芹), Liu S(刘松), et al. 2001a. AFLP markers related to sex in a dioecious plant

龙骨星蕨(水龙骨科 Polypodiaceae)

Microsorium carinatum (W. M. Chu & Z. R. He) S. G. Lu in *Taiwania* 50(2): 139, 2005. ——
Microsorium membranaceum (Don) Ching var. *carinatum* W. M. Chu et Z. R. He in *Acta Bot. Yunnan.* 22(3): 255, 2000.

广西(Guangxi): 环江木论红峒, 邓晰朝等 31793, 海拔 500 m, 石灰岩, 2004 年 7 月 20 日采。

分布: 广西、云南(文山、西畴、麻栗坡、马关)和台湾。广西分布新记录。

区别特征: 该属植物原来在广西记载有 12 种。该分布新记录种与其中的膜叶星蕨 *M. membranaceum* (D. Don) Ching 相近, 但膜叶星蕨的叶柄及叶片中肋横切面呈半圆形, 中肋远轴面干后常压扁近方形或具两条明显的纵沟, 而该分布新记录种的叶柄及叶片中肋远轴面具锐骨状突起, 其横切面呈锐三角形, 易于区别。

本文在研究过程中得到覃玥、韦国富和韦长兴等同志的帮助; 得到木论国家级自然保护区管理局和九万山自然保护区等单位的支持; 文稿在导师陆树刚教授指导下完成; 在此谨表谢意。

参考文献:

- 中国科学院昆明植物所编著. 2005. 云南植物志(第 21 卷) [M]. 北京: 科学出版社.
- 孔宪需, 等. 2001. 中国植物志(第 5 卷第 2 分册) [M]. 北京: 科学出版社.
- 王培善, 王筱英. 2001. 贵州蕨类植物志 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社.
- 吴兆洪, 秦仁昌. 1991. 中国蕨类植物科属志 [M]. 北京: 科学出版社.
- 吴兆洪, 等. 1999. 中国植物志(第 4 卷第 2 分册) [M]. 北京: 科学出版社.
- 李振宇, 邱小敏. 1993. 广西九万山植物资源考察报告 [M]. 北京: 中国林业出版社.
- 周厚高, 黎桦, 黄玉源, 等. 2000. 广西蕨类植物概览 [M]. 北京: 气象出版社.
- 林尤兴, 等. 2000. 中国植物志(第 6 卷第 2 分册) [M]. 北京: 科学出版社.
- 武素功, 等. 2000. 中国植物志(第 5 卷第 1 分册) [M]. 北京: 科学出版社.
- 郑颖吾. 1997. 木论喀斯特林区概论 [M]. 北京: 科学出版社.
- 秦仁昌. 1959. 中国植物志(第 2 卷) [M]. 北京: 科学出版社.
- Chu WM(朱维明), He ZR(和兆荣). 2000. Taxonomic notes on some pteridophytes from Yunnan(云南蕨类植物小志(二)) [J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 22(3): 255-262.
- Lu S G, T Y Aleck Yang. 2005. The checklist of Taiwanese Pteridophytes following Ching's system [J]. *Taiwania*, 50(2): 137-165.

(上接第 391 页 Continue from page 391)

- Ginkgo biloba* (利用 AFLP 技术筛选与银杏性别相关的分子标记) [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis* (南开大学学报), 34(1): 5-9.
- Wang XM(王晓梅), Song WQ(宋文芹), Liu S(刘松), et al. 2001b. RAPD markers related to sex locus in *Ginkgo biloba* (与银杏性别相关的 RAPD 标记) [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis* (南开大学学报), 34(3): 116-117.
- Xu W J, Wang B W, Cui K M. 2004. RAPD and SCAR markers linked to sex determination in *Eucommia ulmoides* Oliv [J]. *Euphytica*, 136(3): 233-238.
- Yakubov B, Barazani O, Golan-Goldhirsh A. 2005. Combination of SCAR primers and touchdown-PCR for sex identification in *Pistacia vera* L. [J]. *Sci Hort*, 103: 473-478.
- Ying ZT(应振土), Li SX(李曙轩). 1990. Relation of sex expression to ethylene evolution and oxidase activity in *Lagenaria leucantha* and *Cucumis sativus* (瓠瓜与黄瓜的性别表达和内源乙烯与氧化酶活性的关系) [J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报), 17(1): 51-57.
- Yu FC(于凤池), Shun YZ(孙耘子), Yuan GF(袁高峰), et al. 2003. Studies on the specific macromolecular markers of sex differentiation in *Thrichosanthes kirilowii* Maxim(栝楼性别分化特异大分子标记物研究) [J]. *Acta Agric Zhejiangensis* (浙江农业学报), 15(6): 332-335.
- Zhang LP(张立平), Lin BN(林伯年), Shen DX(沈德绪).

1998. The study on sexual distinction of dioecism in *Vitis* (雌雄异株葡萄的性别鉴定研究) [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 15(4): 63-67.
- Zhang L S, Li C Y, Jia J H, et al. 1999. Making DNA template in the study of sex determination in *Actinidia* by AFLP (猕猴桃雌雄性的 AFLP 鉴别中 DNA 模板的制备) [J]. *J Fruit Sci* (果树科学), 16(3): 171-175.
- Zhang Y H, Stilio V S-di, Rehman F, et al. 1998. Y chromosome specific markers and the evolution of dioecy in the genus *Silene* [J]. *Genome*, 41: 141-147.
- Zhao YY(赵云云), Liu JP(刘捷平). 1991. Physiological and biochemical characteristics and identification of the sexes in dioecious plants (雌雄异株植物的生理生化特性及性别鉴定) [J]. *J Beijing Teachers Coll* (北京师范学院学报), 12(4): 27-33.
- Zhao YY(赵云云), Tian RL(田汝岭), Liu JP(刘捷平), et al. 1996. Comparative study on isoperoxidase in the female and male plant (*Broussonetia papyrifera*) (雌雄构树过氧化物酶同工酶的比较研究) [J]. *J Capital Normal Univ* (首都师范大学学报), 17(2): 84-87.
- Zhong HW(钟海文), Yang ZH(样中汉), Zhu GX(朱广席), et al. 1982. Peroxidase isozyme pattern as a biochemical test to distinguish the sex of individual plant in *Ginkgo biloba* (根据过氧化物同工酶图谱鉴定银杏植株的性别) [J]. *Sci Silv Sin* (林业科学), 18(1): 1-4.