

银杏胚胎发育研究述评 ——兼论银杏系统发育

邢世岩 孙 霞

(山东省林业学校 泰安 271000)

A REVIEW ON THE EMBRYOLOGY OF *GINKGO BILOBA* WITH A DISCUSSION ON THE PHYTOGENETIC DEVELOPMENT

Xing Shiyan Sun Xia

(Shandong Forestry School Taian 271000)

关键词 银杏, 胚胎学, 系统发育

Key words *Ginkgo biloba*, Embryology, Phylogenetic development

本文对银杏胚胎发育研究的历史、雌雄配子体发育、受精及种子发育、银杏系统发育及亲缘关系等方面进行了评述。

1 历史回顾

银杏 *Ginkgo biloba* 是第四纪冰川之后唯一在我国保存的 1 科 1 属 1 种。Wilson (1920) 认为银杏于 6 世纪通过佛教徒传到日本。李惠林否定了上述推断。至于“银杏于宋朝(11 世纪)传入日本”之说, 目前仍缺乏应有的证据^[1,2]。但有一点应该肯定, 第一个知道银杏的西方人 Kaempfer 于 1690 年在日本首先看到银杏, 1692 年首次将银杏引种到荷兰乌得勒支植物园, 并于 1712 年在他的《Amoenitatum Exoticarum》一书中描述了银杏的叶子和种子^[2~4], 从此银杏形态学研究正式开始。英国植物学家 Gordon 于 1754 年将标本送给了 Linnaeus, 由于 Linnaeus 未见到银杏的“花”, 故当时并没确立其分类地位。1760 年在英国皇家植物园首次发现银杏的“雄花”, 1771 年 Linnaeus 接受了 Kaempfer(1712)提

收稿日: 1995-02-08, 修回日: 1995-10-31。第一作者: 男, 37 岁, 副教授(硕士)。

出的属名,并命名为 *Ginkgo biloba* L., De Candolle(1814)首次观察到银杏的“雌花”^[3],此后,关于银杏雌雄配子体形态学研究引起诸多人的重视。关于这方面的研究,日本的 Sakisaka 已有系统论述^[3]。

19世纪末,银杏胚胎学奠基人、日本的平漱作五郎(Hirase)于1895年首次报道银杏具游动的鞭毛精子^[5]。这一轰动整个植物界的重大发现不仅使银杏从红豆杉科(Taxaceae)分离出来,同时也标志着银杏胚胎学研究的正式开始^[5,6]。此后,日本的平漱氏、池野氏、岛村环、Herzfeld 和 Sakisaka 等^[3,5,7~9]均对银杏受精及原胚形成进行了初始探索性研究。20世纪30~40年代,银杏胚胎发育的研究并无重大突破。从50年代至今研究的深度和广度不断增加,以致使人们对银杏胚胎发育有了较系统的了解^[10~13]。

2 雄配子体发育(传粉→精子)

2.1 小孢子叶球及花粉

在北京,3月中旬小孢子囊已分化出造孢组织,3月底后者分化成小孢子母细胞,4月底~5月初多数花粉处于4细胞阶段,传粉作用在一周内完成^[14]。通过扫描电镜发现,银杏花粉粒极轴长29~33 μm,赤轴长26~28 μm,双轴平均长27~29 μm。花粉粒为长球形、单沟、沟开裂,中部阔两端变细。成龄树花粉粒表面饰纹放大2000倍以上时,可见密布排列且不规则的短条纹。每个小孢子叶球约含8.5万粒花粉^[15]。花粉内游离氨基酸达11种之多^[16]。

2.2 雄配子体发育过程

Hirase 首次提出银杏成熟配子体的基本构造^[17,18]。早期研究仅限于双维空间的观察和描述,对雄配子体从传粉到受精长达4~5个月期间诸多瞬间变化难以准确定位。80年代末 Friedman 利用电子计算机成像术将银杏雄配子体发育分成3个阶段,最终雄配子体从一个原始管状结构变成一个圆形结构,这与苏铁相似^[18,19]。随雄配子体远离富含糖分的贮粉室,分枝水平不断增加。银杏雄配子体复杂的胞间生长模式形成大量细长且高度分枝的吸器系统(直径<5 μm)。这对减少花粉管延长生长阻力及增加表面积/体积比例、克服营养协迫有直接作用。苏铁幼龄的吸器式管状配子体直径是银杏的15倍,苏铁和松树粗大且很少分枝的花粉管,则通过雄配子体对邻近珠心组织的机械损伤或酶性降解获得大量营养。这可能是所有种子植物雄配子体异养模式的不同表达方式^[18]。

2.3 雄配子体发育的细胞学

尽管 Wolnika、Strasburgekr、Hirase、李正理、Friedman、Rohr、Gifford 等^[7,17,18,20~23]均对离体或自然条件下雄配子体发育的形态学进行了研究,但很少有人涉及成熟雄配子体内的第二原叶细胞、不育细胞和精原细胞的起源问题。银杏与苏铁极为类似的雄配子体发育模式导致 Webber(1901)和 Sterling(1963)等提出了银杏雄配子体球状膨大发育理论(protrusion theory of development),但缺乏发育证明^[21,25]。美国加利福尼亚大学的 Friedman 等发现,与苏铁不同,银杏雄配子体的不育细胞和精原细胞,系来自生殖细胞拟环状垂周分裂,并形成一漏斗形细胞壁^[12]。这种分裂方式只有在薄囊蕨精子器和某些蕨类气孔发育期间才能见到。但能否认为银杏、苏铁及蕨类在进化上具同源性,有待于进一步验证。现已查明,从小孢子到2个成熟精子形成,共需5次有丝分裂(其中在珠心内2

次)。在美国加利福尼亚,从传粉到受精约需4个半月,而我国北京需120天^[12,14,17,18]。时间进程的划分和确定对于银杏人工授粉、种子生产及丰产栽培均有重要意义^[19]。

2.4 精原细胞的超微结构

银杏和苏铁是种子植物中能产生游动精子的物种。其最令人感兴趣的问题是在精原细胞内可产生明显的细胞器(生毛体),生毛体在其周缘形成原基体(中心粒),然后每个中心粒形成一具鞭毛的基体,同时游动精子形成^[21]。李正理认为在每个生毛体附近有类液泡发育^[22],但Gifford等认为是嗜锇小球,他用电子显微技术,使人们对2个精子形成前充分膨大的精原细胞内不同细胞器的起源和构造有了较全面系统的了解^[21]。

2.5 组织培养

早在1939年,Newcomer曾在各种培养基上进行银杏花粉培养,但未见花粉发芽^[26]。银杏花粉培养的先驱美国的Tulecke证明^[27,28],柄细胞和管细胞是形成愈伤组织最活跃的部位。由精原细胞分裂形成的2个精子,其直径比自然条件下短40μm以上。由银杏花粉培养可产生一种组织无性系,其生长需要精氨酸。该无性系来自属于生物化学突变体的异常花粉粒^[29],这对组织营养和生理有重要意义。银杏雌雄白化体和绿色组织为研究叶绿体的功能、代谢及细胞分化、原卟啉合成等均提供了良好的试验系统^[30]。Dexheimer曾观察到与被子植物和大多数裸子植物相反的结果,即离体条件下银杏管细胞常为圆形且缺乏组织化的顶端^[18]。Friedman证明,降低蔗糖浓度可促进管细胞分枝,并认为管状配子体分枝数量减少及早期扩散生长滞后所引起的表面积/体积比率降低,可能与雄配子体在培养基上有较高营养代谢水平有关^[17]。值得注意的是最近研究表明,银杏小孢子培养在Nitsch(1967)液体培养基中,电子胁迫可以促进离体条件下小孢子的胚胎发生,10周之后可产生300~5300个/mL胚状体^[13]。日本的齐藤明(1978)报道,目前已由银杏花粉诱导出单倍体植株^[31]。但银杏雄配子体培养的形态分化及实验技术有待进一步研究^[19]。

3 雌配子体发育(胚珠发育→卵子)

3.1 胚珠的发育及构造

Foster和Gifford认为胚珠是银杏的雌性生殖器官^[32]。Nozeran认为,从短枝上胚珠的着生位置来看,银杏雌花是真正的一种原始球果^[10]。在北京,3月中旬银杏胚珠便开始发育,此时已分化出珠心和珠被^[11]。在幼小胚珠顶端有2个胚珠原基,随后胚珠原基便可突起。胚珠原基顶端组织学特征与Foster^[33]观察到的营养芽顶端分区不同。珠被是由胚珠原基侧面的突起形成的。当珠被原基出现后随即围绕珠心扩展,最终形成一个完整的环状组织。在北京,6月份当精原细胞到达珠心顶部时,珠被已明显分化为3层细胞。4月中旬珠托开始分化^[14],珠托是由珠被基部的珠托原基发育而成的。1个成熟的胚珠由珠心、珠被、珠托、合点端、珠孔端组成,其内着生大孢子母细胞^[34]。

3.2 大孢子母细胞的发育

银杏大孢子母细胞经减数分裂形成3~4个细胞,近珠孔的2~3个细胞退化,离珠孔最远的1个细胞发育成大孢子。这与该细胞更易吸收来自合点端的养分有关^[35]。在银杏大孢子母细胞延长生长过程中,其超微构造要经过4个变化过程:①珠孔端内质网发达且纵横交错;②核外膜出现断裂带,并与极性内质网同时发生;③质体及线粒体大量迁移到

细胞两侧及合点端,并与极性内质网有关,这两种细胞器伸展至合点端可使细胞质呈凝胶状,从而限制其进一步流动;①在紧靠核下边的合点端出现大量液泡。对于1个成熟的大孢子母细胞,其细胞器数目与减数分裂Ⅰ期相同^[34]。

3.3 雌配子体的发育过程

银杏雌配子体发育主要包括游离核阶段、细胞阶段和颈卵器发育3个阶段。在北京,5月12日游离核进行第7次有丝分裂,可产生128个游离核^[14]。13次连续有丝分裂可产生8000个游离核,第14次有丝分裂后游离核形成细胞^[6,14]。银杏颈卵器通常有2个,2个颈细胞停留时间较长。8月中旬受精前,中央细胞分裂产生腹沟细胞和卵细胞,同时2个颈细胞分裂形成4个颈细胞。卵细胞受精前的重要特点是淀粉和脂蛋白的积累^[6]。

3.4 雌配子体发育生理

就水分和养分来看,银杏雌配子体生长曲线为“S”型^[6,11,19,36]。雌配子体在受精之前的一个重要生理现象是淀粉、类脂及脂蛋白的积累。干重的增加是在鲜重增加之后2个月开始的。但在受精之前,受精并没有改变银杏雌配子体养分的积累。这与大多数松树在胚形成之后才有养分积累形成鲜明对比。银杏成熟的雌配子体含水量达60%^[6]。Burgesstein和Carothers曾指出银杏雌配子体含有叶绿素并可能有光合作用^[36]。在美国,7月份银杏雌配子体(干重)叶绿素含量为 $4.69 \times 10^{-1} \text{ mg/g}$,叶绿素a:b为1.9:1。全光下珠孔端进入雌配子体的量子通量密度为 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,合点端为 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。雌配子体有粗光合能力,但光合强度低于呼吸强度。在所有种子植物中只有银杏雌配子体含有叶绿素且具粗光合能力,其原因有两点,一是雌配子体接受了足够的光能从而促进叶绿素合成;二是固有的生理机能,并以特定的方式对光能作出反应^[36]。

就内源激素来看,在银杏幼龄雌配子体内含有一种未知的生长促进物质。这种物质对多脂松(*Pinus resinosa*)胚培养有促进形态发生的作用^[37]。加拿大的Banerjee等^[11]进一步发现,银杏胚胎发育的不同阶段,游离氨基酸按一定规律变化。银杏卵未受精之前类GA和类CK含量最高,当细胞分裂指数下降时,上述二类激素含量递减。CK和GA也许是银杏胚乳或雌配子体发育所必须的,但并非与胚有直接关系^[11]。

3.5 离体培养

光照条件下银杏离体的雌配子体体积增加6倍,叶绿素含量明显增加^[27]。美国的Tulecke^[38]曾首次报道由银杏雌配子体可产生单倍体组织。离体条件下培养2~3个月后,雌配子体便可形成良好的愈伤组织,但无形态分化^[6,48]。2,4-D和椰乳汁对愈伤组织诱导有利。值得重视的是,利用雌株或雄株二倍体组织离体培养,可辨别其雌雄性,即离体条件下雄性愈伤组织为白色,具未分化特征;雌性愈伤组织为绿色,具分化特征^[38]。银杏雌雄单倍体组织的诱导研究为试验形态学、细胞学研究提供了一种新的试验手段。

4 受精作用(精子、卵子→合子)

关于银杏的受精作用 Hirase、Ikeno、Herzfeld、Shimamura 及李正理等均有报道^[5,7~9,22,39]。在北京,银杏受精多在8月16~20日,而巴黎和加利福尼亚比北京晚15天,伊利诺斯比北京迟20~30天^[6,14,18]。受精过程中只有1个精子进入颈卵器,如果2个精子同时进入一颈卵器,则其中1个很快被吸收^[22]。日本的Ikeno发现2个核融合是不均等

的,雌核成分是雄核的 10 倍,如此大的差异在裸子植物中从未见到^[9]。精核在失去膜结构之前,是逐渐进入到卵核内部的。Favre-Duchartre^[6]将银杏受精前后的珠心组织变化分成 3 个阶段,即首先贮粉室变干,其顶部与花粉管相连;其次贮粉室延长并充满流体物;最后珠心变薄变干,贮粉室枯萎并与原叶体相连。

5 种子发育(合子→种子生理成熟)

5.1 胚胎发生

Hirase 和 Shimamura 分别对合子形成后第 1 次和第 2 次分裂进行了详细观察,并认为游离核分裂至少可同步到 64 个核阶段^[5,39]。Favre-Duchartre 认为^[6],受精后第 1 天初生胚有 128 个核,这种情况可以维持 12 天,8 次连续分裂共形成 256 个游离核^[5]。Hirase 再次证明^[7],一系列游离核分裂最终形成原胚。他认为卵细胞上部的空腔系由几个液泡粘联而成。王伏雄等^[14]进一步证实了 Hirase 和 Herzfeld 的观察,并认为受精后两周基本完成原胚游离核分裂阶段,9 月初形成细胞壁。原胚细胞壁刚形成时细胞特别大,直径 70~110 μm ,核明显,四周具放射状排列的细胞质。此时,原胚组织在形态上无明显的极性分化。10 月初,原胚在外观上呈球形,在组织上出现极性分化,珠孔端细胞大,合点端细胞小。随后合点端细胞分裂活跃,而珠孔端细胞以扩大和延长为主,形成较不发达的胚柄组织。10 中旬,苗端呈扁平状,子叶原基开始分化,苗端深处出现弧形排列的细胞,根原始细胞开始分化。从原胚细胞壁形成到根原始细胞和子叶原基出现,大约经过 30 多天的时间。从 11 月初直到次年 1 月,胚的活动中心主要表现在根原始细胞区^[14]。从原胚游离核分裂次数和游离核数目看,苏铁(*Cycas*)较银杏原始,而银杏又较松树(*Pinus*, sp)原始。如苏铁受精卵经 10 次有丝分裂产生 1024 个游离核;银杏 8 次产生 256 个游离核;而松科(*Pinaceae*)3 次产生 8 个游离核。在法国,银杏受精后 3 个月胚可以发育到最大体积^[6]。邢世岩证明^[19],受精后 2 个月胚生长最快,11 月份后胚生长量甚微。银杏属于“生理后熟”种子,受精后约 30 天形态成熟并脱落。Favre-Duchartre 及 Eames 均认为银杏有“落地受精”现象,但王伏雄等否定了上述观点^[14,32]。邢世岩发现^[19],即使在良好的授粉条件下,银杏的无胚率仍达 5% 以上。银杏胚胎发生与授粉、营养及环境条件有关。

5.2 胚乳发育

银杏雌配子体除产生生殖器官——颈卵器外,其余大部分雌配子体细胞均发育成营养组织——胚乳。所以,有人将雌配子体称为胚乳。但严格讲胚乳仅是雌配子体的一部分。银杏胚乳是由大孢子经减数分裂直接发育而成,属于单倍体,而被子植物胚乳属三倍体。银杏胚乳的发育与雌配子体发育同时进行。胚乳是银杏食用及加工的主要部分,占种仁总量的 95%~98%。成熟的胚乳相当发达,且具多核,富含淀粉、类脂、蛋白质及矿质营养,为胚萌发提供能量。所以,尽管银杏胚乳的起源与被子植物不同,但其功能是一致的^[6,19]。然而,传粉与胚乳发育有何联系? 胚乳发育是否具独立性? 乃是值得重视的问题。

5.3 种皮发育

银杏外、中、内种皮系由相应的珠被发育而成。外种皮在种子中间厚 5~6 mm,两端厚度为中间的 1/2。王伏雄等^[6,14]均证明,8 月底~9 月初银杏肉质外种皮、骨质中种皮及膜质内种皮已明显分化。外种皮表面角质层厚 15 μm ,由 2 个富含淀粉的肾形细胞组成的

气孔(8 mm^2)在其上相间排列,蜡质并不连续。外种皮含有叶绿素、单宁及类脂,个别细胞内的氧化钙晶体呈簇状排列。外种皮内含有椭圆形或圆形油胞,不同品种在密度、大小及形状上差异较大。从表皮向内,细胞体积逐渐增大。外种皮成熟时橙黄色,大多品种的种子背腹面不明显^[19]。中种皮骨质洁白,厚度0.5 mm。种壳珠孔端较薄、质地均匀、平滑,木质化程度差,易开裂;相反基端木质较厚、纹理交错、质地粗糙,并有条纹突起,不易开裂。顶端和基端特殊的解剖构造为种子发芽创造了良好的物质条件。中种皮可明显分成上下两部分。上下之间有突起的横隐线可见,横隐线的位置及清晰度可作为栽培品种的分类依据。剥离时上下分界明显,上部易从中线处开裂,而下部呈筒状不易开裂。基部双维管束连生或分离,棱线上部明显或成翼,而下部不明显。内种皮膜质,在横轴线上下表现出不同的形态和解剖特征,分界十分明显。上部内种皮分成两层,一层常粘着到中种皮上,另一层紧贴在种仁上,呈金褐色。细胞较大无纹饰,并与胚珠轴线平行排列。下部内种皮全附在种仁上,质地脆且不透明,为暗棕色或灰白色,其上的蜡质呈念珠状分布。细胞排列整齐并有环状木质加厚,这种情况直到胚珠中部^[19,31]。银杏三层种皮分化是在受精之前,而且受精并没有改变珠被的发育进程。而其它裸子植物珠被发育是在受精之后^[6]。

5.4 珠托发育

珠被的基部有一边缘突起,即珠托。珠托已被解释为一种残存的孢子叶,但 Pankow 等(1967)认为珠托并无维管束。银杏胚珠是茎生,并在侧轴顶端,从个体发育的观点来看,珠托有“叶”的本质是非常可疑的^[32]。但 Van Tieghem 认为珠托为残存的次生假种皮^[40],随着胚珠发育,珠托逐渐固着到胚珠基部。其形状为圆形、椭圆形并与品种有关。

5.5 胚培养

银杏离体培养最初从胚培养开始。李继侗等首次证明,当银杏幼胚长度为3 mm 以上,在离体条件下可正常生长,并发现银杏胚乳提取液可以促进离体胚的生长^[19]。Ball 认为,离体条件下小苗初生根在胚中是内起源的,初生形成层呈二原型排列,下胚轴横断面上有5~6个原生木质束围绕在髓心外围。Ball 对银杏胚根发端的研究结果为裸子植物和被子植物根端比较形态学奠定了良好基础^[41]。尽管银杏下胚轴纵切的效应可涉及到茎端区域,但茎端和根端均有一相互调节和适应的区域,即各自的分生组织都按其固有的模式发育^[19,41]。在胚培养中人们发现,天然复合物蜂皇浆、椰乳汁和酪朊水解物均有促进离体胚生长的作用。椰乳汁尤其对小于1.0 mm 的幼胚有促进分化的作用^[42]。美国的 Ball 证明,在离体条件下蔗糖、葡萄糖和果糖对银杏胚根的生长要比对芽的生长更有利,然而最理想的碳源为葡萄糖。谷氨酰胺有明显促进茎生长的作用^[19,43]。

6 系统发育——亲缘关系比较

就目前研究结果来看,银杏从形态、解剖及胚胎学上具有明显特点。主要表现在雌雄异株,雌雄同株,叶籽银杏,叶生小孢子叶球,树奶^[1,3,14],基生树瘤^[1,45],巨大的落叶乔木,枝的二型性,具柄的营养叶及全缘或多裂片的叶^[32],管胞为双列纹孔式,颈卵器室为缝隙状,胚珠周围有珠托发育,珠心顶部具帐篷柱,具大小不等的子叶^[14,19,32],雌配子体含有叶绿素并具粗光合能力^[45],成熟胚形体较大,雌配子体游离核分裂十分一致等^[10]。

就胚胎发育来看,银杏和苏铁等植物有许多相似之处:雄配子体具发达且高度分枝的

吸器系统及游动的鞭毛精子;在原胚及雌配子体发育过程中,游离核数量多、持续时间长;小孢子囊为真蕨型发育方式;孢子叶为叶性的;具珠心喙和贮粉室;颈卵器大且具4颈细胞;胚在珠孔端倒立;雄配子体发育后期近基端明显有扩散生长,且管核迁移到精原细胞附近,雄配子体近基球状膨大仅限于游动孢子受精植物——银杏和苏铁。尽管初始分枝是银杏雄配子体分枝的主要方式,但在离体条件下有次生分枝,这与 *Ceratozamia* 和赤松 (*Pinus densiflora*) 是相似的。此外,从形态及解剖特征来看,银杏的许多方面又与松、杉类相似。如根和茎的次生木质部具年轮,次生木质部密木型,叶气孔下陷,根不易产生不定芽,具轮生枝等等^(14,19)。

银杏与苏铁、松柏、蕨类等在系统发育上又有许多不同之处,主要表现在:银杏雄配子体通过复杂的分枝吸器系统来减少花粉管延长阻力,从而大大增加其表面积/体积比值,进而克服养分胁迫;而苏铁和大多数松树的雄配子体是通过酶的降解和对珠心组织的机械损伤来达到上述目的。银杏雌配子体在受精前便有淀粉、类脂及蛋白质等养分的积累。而松树,是在胚形成后才开始⁽⁶⁾。迄今为止,除银杏外还没有一种种子植物雌配子体在发育期间能合成叶绿素,这与大多数针叶树和苏铁的不育组织及被子植物的子房壁阻止光子进入胚珠和配子体有关。银杏在受精前,3层珠被已充分分化,受精并未改变珠被的发育进程。而其它裸子植物珠被在受精之后充分发育,如红豆杉属 (*Taxus*)、三尖杉属 (*Cephalotaxus*) 和麻黄属 (*Ephedra*) 等。与松类相比,银杏胚各种组织分化较晚,而且相对较不明显。有关研究表明,银杏不育细胞和精原细胞系来自生殖细胞拟环状垂周分裂,并形成一漏斗形细胞壁。这种分裂方式只有在某些蕨类精子器或气孔发育期间才能看到⁽¹²⁾。根据 Florin (1939) 提出的“种鳞复合体”概念,傅德志等⁽⁴⁰⁾提出解释裸子植物生殖器官形态演化的“苞鳞-种鳞复合体”概念和演化理论,并试图解释以下情况,即银杏的生殖器官中的某些性状虽与苏铁十分相似,但由于苞鳞-种鳞复合体的出现,标志这一类群远较苏铁特化,并应与所有具苞鳞-种鳞复合体的类群在同一条演化线上⁽⁴⁰⁾。

总而言之,从精子形态和结构上看,银杏在裸子植物中属比较原始的物种,而从原胚游离核的数量来看更加明显。即银杏较苏铁进化,而红豆杉科、松柏科更为进化。银杏大孢子叶球的式样,可能代表裸子植物一种早期的原始大孢子叶球式样,为古裸子植物不甚分化的可育枝向高度压缩和变态的可育枝条演化的一种中间过渡式样。银杏可能与松柏类先驱科达类 (Cordaites),现存的竹柏科 (Nageiaceae)、麻黄科 (Ephedraceae)、百岁兰科 (Welwitschiaceae) 及南洋杉科 (Araucariaceae) 等裸子植物有较密切的关系。

参 考 文 献

- 1 吉岡金市. 果樹の接木交雑. しこする・新種・新品种育成の理論と実際. 東京:新科学文献刊行会, 1967, 143~228
- 2 Li Hui-Lin. *Ginkgo* — the maidenhair tree. *Amer Hort Mag.*, 1961, **40**: 239~249
- 3 Sakikawa M. On the seed bearing leaves of *Ginkgo*. *J. Jap Bot.*, 1929, **4**: 219~233
- 4 Seward A C. The story of the maidenhair tree. *Sci Progr.*, 1938, **32**: 120~140
- 5 Hirase S. Spermatozoid of *Ginkgo biloba*. *Bot Mag.*, 1896, **10**: 171~172
- 6 Favre-Duchartre M. *Ginkgo*, an oviparous plant. *Phytomorphology*, 1958, **8**: 377~390
- 7 Hirase S. Further studies on the fertilization and embryogeny in *Ginkgo biloba*. *Bot Mag.*, 1918, **32**(379): 83~108
- 8 Herzfeld S. Beiträge zur Kenntnis von *Ginkgo*. *Jahrb Wiss Bot Bd* 62, Heft 5, 1927, **5**: 813~841
- 9 Ikeno S. Contribution à l'étude de la fécondation chez le *Ginkgo biloba*. *Ann d' Sc Nat 8 Ser Botanique T*, 1901, **13**:

305~316

- 10 李正理. 最近十年(1949—1959)关于银杏的形态解剖学及细胞学上的研究 I. 植物学报, 1959, **8**(4): 262~270
- 11 Banerjee S N. Changes in the amounts of gibberellin-like and cytokinin-like substance in developing seeds of *Ginkgo biloba* L. *Bot Mag*, 1968, **81**: 67~73
- 12 Friedman W E, Gifford E M. Division of the generative cell and late development in the male gametophyte of *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 1988, **75**(9): 1434~1442
- 13 Laurain D, Chenieux J C, Trémouillaux-Guiller J. Direct embryogenesis from female haploid protoplasts of *Ginkgo biloba* L., a medicinal woody species. *Plant Cell Rep*, 1993, **12**: 656~660
- 14 王伏雄, 陈祖铿. 银杏胚胎发育的研究——兼论银杏目的亲缘关系. 植物学报, 1983, **25**(3): 199~207
- 15 杨传友, 史金玉, 苗良等. 银杏雄株开花生物学特性的研究. 见: 中国林学会银杏筹委会等编. 全国首届银杏学术研讨论文集. 湖北: 湖北科学技术出版社, 1992. 34~41
- 16 朱家骏, 江洪. 银杏和湿地松花粉、花药及茎尖组织的氨基酸分析. 林业科学, 1982, **18**(1): 80~84
- 17 Friedman W E. Morphogenesis and experimental aspects of growth and development of the male gametophyte of *Ginkgo biloba* in vitro. *Amer J Bot*, 1987, **74**(12): 1816~1831
- 18 Friedman W E. Growth and development of the male gametophyte of *Ginkgo biloba* with in the ovule (in vivo). *Amer J Bot*, 1987, **74**(2): 1797~1815
- 19 邢世岩. 银杏丰产栽培. 济南: 济南出版社, 1993. 86~113
- 20 Gifford E M, Larson A S. Light microscope and ultrastructural studies of the male gametophyte in *Ginkgo biloba* the spermatogenous cell. *Amer J Bot*, 1975, **62**: 974~981
- 21 Gifford E M, Larson A S. Developmental features of the spermatogenous cell in *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 1980, **67**(1): 119~124
- 22 Lee C L. Fertilization in *Ginkgo biloba*. *Bot Gaz*, 1955, **117**: 79~100
- 23 Wolnika S M. Organelle distribution and apportionment during meiosis in the microsporocyte of *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 1976, **63**: 251~258
- 24 Sterling C. Structure of the male gametophyte in gymnosperms. *Biol Rev*, 1963, **38**: 167~203
- 25 Webber H J. Spermatogenesis and fecundation of Zamia. *Bull U S Dept Agri Bur plant Industry*, 1901, **2**: 1~92
- 26 Newcomer E H. Pollen longevity of *Ginkgo*. *Bull Torrey Bot Club*, 1939, **66**: 121~123
- 27 Tulecke W R. A tissue derived from the pollen of *Ginkgo biloba*. *Science*, 1953, **117**: 599~600
- 28 Tulecke W. The pollen of *Ginkgo biloba* in vitro culture and tissue formation. *Amer J Bot*, 1957, **44**: 602~608
- 29 Tulecke W. Arginine-requiring strains of tissue obtained from *Ginkgo* pollen. *Plant physiol*, 1960, **35**: 19~24
- 30 Tulecke W. Plastid function in plant tissue cultures I. Porphyrin synthesis by dark-grown haploid and diploid albino culture. *Amer J Bot*, 1967, **54**(6): 797~807
- 31 齐藤明. Tissue culture in wood plant. *In Vitro*, 1978, **4**(3): 271~279
- 32 Foster A S, Gifford E M. 李正理等译. 维管植物比较形态学. 北京: 科学出版社, 1983. 362~378
- 33 Foster A S. Structure and growth of the shoot apex in *Ginkgo biloba*. *Bull Torrey Bot Club*, 1938, **65**: 531~556
- 34 Steward F C, Caplin S M. Investigation on growth and metabolism of plant cells IV. evidence on the role of the coconut-milk factor in development. *Ann Bot*, 1952, **16**: 491~504
- 35 Chamberlain C J. Gymnosperms, structure and evolution. Chicago: Univ Chicago Press, 1935
- 36 Friedman W E, Goliber T E. Photosynthesis in the female gametophyte of *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 1986, **73**(9): 1261~1266
- 37 Stewart K D, Gifford E M. Ultrastructure of the developing megasporangium of *Ginkgo biloba*. *Amer J Bot*, 1967, **54**(3): 375~383
- 38 Tulecke W. A haploid tissue culture from the female gametophyte of *Ginkgo biloba* L.. *Nature*, 1964, **203**(4): 94~95
- 39 Shimamura T. On the formation of proembryo of *Ginkgo biloba* L. *Bot Mag*, 1928, **42**: 71~76
- 40 傅德志, 杨亲仁. 银杏雌性生殖器官的形态学本质及其系统学意义. 植物分类学报, 1993, **31**(3): 294~296
- 41 Ball E. Growth of the embryo of *Ginkgo* under experimental conditions I. Origin of first root of the seedling in vitro. *Amer J Bot*, 1956, **43**: 488~495
- 42 王伏雄, 陈祖铿. 银杏幼胚离体培养的研究——椰子乳汁对幼胚生长的影响. 植物学报, 1965, **13**(3): 224~231
- 43 Ball E. Growth of the embryo of *Ginkgo biloba* under experimental conditions II. Growth rates of root and shoot upon media absorbed through the cotyledons. *Amer J Bot*, 1959, **46**(2): 130~139
- 44 Li Chengli, Lin Jinxing. Wood anatomy of the stalactile like branches of *Ginkgo*. *IAWA Bull n.s.*, 1991, **12**(3): 251~255
- 45 Del Tredici P. Natural regeneration of *Ginkgo biloba* from downward growing cotyledonary buds (basal chichi). *Amer J Bot*, 1992, **79**(5): 522~530