

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2016.20165

全盼盼, 王玲丽, 刘文哲. 倒地铃花的形态分化与花药结构研究[J]. 植物科学学报, 2016, 34(2): 165~174

Tong PP, Wang LL, Liu WZ. Study on the morphodifferentiation and anther structure in flowers of *Cardiospermum halicacabum* Linn.[J].*Plant Science Journal*, 2016, 34(2): 165~174

倒地铃花的形态分化与花药结构研究

全盼盼¹, 王玲丽^{1,2}, 刘文哲^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 2. 运城学院生命科学系, 山西运城 044000)

摘要: 利用体视显微镜、半薄切片和超薄切片法对倒地铃(*Cardiospermum halicacabum* Linn.)雄花和假两性花开花过程及花药发育过程进行了观察和比较研究。结果显示: (1)花蕾发育早期, 倒地铃雄花和假两性花的花蕾形态没有区别; 花蕾发育后期, 雄花雌蕊退化, 假两性花雌蕊继续发育, 花蕾外部形态出现差异; 开花时雄花花药开裂, 假两性花花药不开裂。(2)倒地铃雄花和假两性花均具四室花药, 呈蝶形; 花药壁细胞从外到内依次是表皮、药室内壁、中层(2层)和绒毡层; 花药壁发育为基本型, 绒毡层为单核分泌型, 四分体为四面体型, 花粉粒两核; 开花时雄花和假两性花中层都有残留; 小孢子液泡化时, 绒毡层开始降解, 两核花粉粒时, 假两性花绒毡层降解较快。(3)雄花药室内壁次生加厚完全, 裂口区发育, 连接同侧花粉囊的连接组织降解, 花药开裂; 假两性花药室内壁次生加厚不完全, 具唇形细胞, 药隔细胞壁未降解, 同侧花粉囊未连通, 花药四室, 不开裂; 假两性花成熟花粉粒细胞质稀少, 内壁不完整。本研究结果表明, 倒地铃的雄花是由两性花在发育早期雌蕊停止发育形成的, 假两性花则由两性花在发育晚期雄蕊功能退化造成的。

关键词: 倒地铃; 雄花; 假两性花; 小孢子; 雄配子体; 花药开裂

中图分类号: Q944; Q949.755.5

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2016)02-0165-10

Study on the Morphodifferentiation and Anther Structure in Flowers of *Cardiospermum halicacabum* Linn.

TONG Pan-Pan¹, WANG Ling-Li^{1, 2}, LIU Wen-Zhe^{1*}

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Department of Life Science, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi 044000, China)

Abstract: Flowering and stamen development in staminate and pseudo-bisexual flowers of *Cardiospermum halicacabum* Linn. were studied using stereomicroscopy, with semi-thin and ultra-thin sections. Results showed that: (1) At the early development of flower buds, no differences were observed between staminate and pseudo-bisexual flower buds. At the late development of flower buds, the staminate flower pistils had degenerated, but the pseudo-bisexual flower pistils were still developing. Thus, both types of flower buds could be distinguished by bud morphology. During anthesis, the staminate flower anthers were dehiscent, whereas those of the pseudo-bisexual flowers were not. (2) The anthers were tetrasporangiate in both types of flower. The wall consisted of an epidermis, endothelium, two middle layers and an uninucleate secretory tapetum. The development of the anther wall was basic. The microspore tetrads were tetrahedral. Mature anthers had the remnants of a middle layer in both types of flower. Tapetal cells of both types of flower began to degrade during

收稿日期: 2015-11-23, 退修日期: 2015-12-07。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31270428)。

This work was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China (31270428).

作者简介: 全盼盼(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物发育解剖学(E-mail: tongpanpan0227@126.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: lwenzhe@nwu.edu.com)。

microspore vacuolization; when pollen was two-celled, the tapetal cells in the pseudo-bisexual flowers degraded faster than those of the staminate flowers. (3) The fibrillar thickenings in the endothecium of the staminate flowers were well-developed. Two locules were formed by the dissolution of the septum before anther dehiscence. In the pseudo-bisexual flowers, only a few endothecium cells were thickened; mature anthers had lip cells and were not dehiscent, and the anthers had four locules due to septum indissolubility. Mature pollen grain cytoplasm was scarce, and the intine was not complete. In conclusion, at the early development stage of bisexual flowers, staminate flowers formed because the pistil stopped developing; however, at late development, pseudo-bisexual flowers formed because the anthers stopped developing.

Key words: *Cardiospermum halicacabum*; Staminate flower; Pseudo-bisexual flower; Microspore; Gametophyte; Anther dehiscence

无患子科(Sapindaceae)植物大部分种类是单性花，小部分为杂性或两性花^[1]。然而，在具单性或杂性花的种类中，雌花或两性花中具有与雄花中相似的雄蕊，但其雄蕊往往不育，这种雌花又是形态上的两性花，Cao等^[2]将这种类型的花称为假两性花。例如荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)^[3]、龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.)^[4]、文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge.)^[5]、*Cardiospermum grandiflorum* Swartz.^[6]、*Urvillea chacoensis* Hunz.^[6]、*Melicoccus lepidopetalus* Radlk.^[7]和*Handeliodendron bodinieri* (Levl.) Rehd.^[2]的雌花中都具有不育的雄蕊。无患子科不同类群植物雌花中雄蕊败育的形式及原因各有不同。第1种类型是雌花中败育雄蕊的绒毡层降解缓慢、不完全降解或不降解，并伴随着药室内壁加厚不完全，花药不裂，最终导致假两性花中的雄蕊不育，如文冠果^[8, 9]、*Cardiospermum grandiflorum* Swartz^[6]。和*Urvillea chacoensis* Hunz.^[6]都属于此种类型。第2种类型是绒毡层降解不完全，药室内壁不加厚，如*Melicoccus lepidopetalus* Hunz.^[7]。第3种类型是败育发生在雄蕊发育的不同时期，例如龙眼雌花中雄蕊败育发生在雄蕊发育的3个时期：(1)造孢细胞时期，维管组织不发达，花药壁中层缺乏淀粉导致部分造孢细胞败育；(2)四分体时期，雌花雄蕊的小孢子母细胞减数分裂部分不正常，导致部分四分体败育；(3)小孢子时期，绒毡层提前解体，导致小孢子营养不足而败育^[4]。上述研究多针对无患子科的木本植物，而对草本植物的研究少有报道。

倒地铃(*Cardiospermum halicacabum* Linn.)

为倒地铃属(*Cardiospermum*)一年生草质攀援藤本植物，又名风船葛、金丝苦楝藤、野苦瓜、包袱草等。倒地铃属约有12种，多数分布在美洲热带地区，少数广布于世界各热带和亚热带地区。我国仅有倒地铃1种，主要分布在东部、南部和西南部，北部少见。倒地铃主要生长在田野、灌丛、路边和林边^[1]，具有清热、利尿、祛瘀、解毒等功效，常用于治疗肺炎、风湿、黄疸、跌打损伤等^[10]。近年来的研究表明，倒地铃提取物具有抗炎、镇痛、止泻、抑菌、镇静、降血糖和提高小鼠生育能力的作用^[11-17]。韦建华等^[18]从倒地铃全草提取出豆甾醇等11种化合物。陈君等^[19]从倒地铃有效部位提取出槲皮素等8种化合物。目前，对倒地铃的解剖学研究仅限于其开花期雌蕊的结构和果实发育及开裂等方面^[20, 21]。

倒地铃花期为6月—10月，其圆锥花序具有长的总花柄，每个总花柄上着生3个聚伞花序，每个聚伞花序上具3朵花，中央一朵先开放，两侧的后开放。从花的形态学来看，倒地铃具有两种类型的花：雄花和两性花。雄花具有8枚不等长的雄蕊，1枚极度退化的雌蕊，不结实；两性花由8枚雄蕊围绕1枚雌蕊构成，雌蕊具3裂的柱头，授粉后可发育形成果实，而雄蕊花药成熟时不开裂，即雄蕊不育。

为了进一步探明无患子科植物功能性雌雄异花的分化过程及雌花中雄性不育的原因，我们以该科的草本类型倒地铃为材料，利用体视显微镜、半薄切片技术和超薄切片，比较倒地铃雄花与假两性花发育过程中的形态变化及雄蕊结构差异，探讨该科植物性别分化特征，以期为无患子科雌花和雄花雄

蕊的发育过程积累资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

于2013年4月和2014年4月分别将倒地铃种子播种于西北大学生物园内,于同年花期(6月~10月)采集不同发育阶段的花蕾及开放的花朵用于实验。

1.2 开花过程的形态学观察

取不同发育阶段的新鲜花蕾,用游标卡尺测量花蕾长度;在体视显微镜下剥取花被,观察雄蕊和雌蕊形态并拍照。

1.3 半薄切片

取不同发育阶段的花蕾(以花蕾长度为标准)及刚开放的花朵,用2.5%戊二醛(0.1 mol/L 磷酸缓冲液, pH 7.0)预固定3 h;取出并用磷酸缓冲液漂洗3次(每次30 min),然后用1%锇酸后固定(4℃过夜),再用磷酸缓冲液漂洗3次(每次30 min);用梯度乙醇脱水,环氧丙烷过渡,Epon812树脂包埋。用Leica Ultracut R型切片机切片(厚度2 μm),甲苯胺蓝染色,于Nikon eclipse 50i显微镜下观察并拍照。

1.4 超薄切片

材料固定、包埋流程同半薄切片(见1.3小节)。Leica EMUC6 (Reichert-Jung)型超薄切片机(Vienna, Austria)切片(厚度70 nm),然后置于铜网上,用醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,于日立H-600 (Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japan)透射电子显微镜下观察并拍照。

2 结果

2.1 倒地铃开花过程的形态变化

发育早期的花(花蕾长度小于1.1 mm),从花蕾形态上无法区分雄花和假两性花(图版I:A, B);此时,花蕾剥去花被后能观察到8枚雄蕊原基围绕1枚雌蕊原基,雌蕊三心皮还未愈合(图版I:a, b)。花蕾长度为1.2~1.3 mm时,从其外部形态上依然无法区分雄花和假两性花(图版I:C, D);剥去花被后,可区分出雄花和假两性花,雄花中的雌蕊发育停滞甚至退化,假两性雌蕊和雄蕊均正常发育,雌蕊子房上位(图版I:c, d)。

当花蕾长度为1.6~1.8 mm时,从外部形态上可区别雄花和假两性花,雄花花蕾呈圆柱状,假两性花花蕾呈椭圆形(图版I:E, F);去除花被后,雄花雌蕊退化,假两性花雌雄蕊均发育正常(图版I:e, f)。花蕾长度达2.5~2.7 mm即将开花时,雄花花蕾顶部平齐,假两性花花蕾顶部稍尖(图版I:G, H);此时,雄花的花药、花丝迅速增长,花药横向开裂(图版I:g);而假两性花的花药、花丝短,花药不开裂,雌蕊发育完全,柱头三裂,高于雄蕊群(图版I:h)。开花时,雄花及假两性花均具4枚乳白色的花瓣,两两对生(图版I:I, J);每枚花瓣向内分生出1枚小花瓣,4枚小花瓣紧抱雄蕊或雄蕊和柱头,其中2枚尖端具橘黄色的密导,花盘上具2个乳突状的蜜腺(图版I:i, j);此时,假两性花花药仍未开裂(图版I:l, j)。

2.2 倒地铃雄花和假两性花花药发育过程的相似特征

倒地铃花药发育过程参照Sanders等^[22]对拟南芥花药发育时期的分类方法。在两核花粉粒之前,雄花和假两性花的花药发育过程相似。下面我们根据显微镜下的观察结果,对倒地铃雄花和假两性花发育的相似阶段进行描述。

(1) 造孢细胞时期

花药原基的孢原细胞平周分裂形成初生壁细胞和初生造孢细胞。初生造孢细胞经过分裂分化形成次生造孢细胞(图版II:A)。次生造孢细胞排列紧密,细胞质染色均匀,无明显液泡,细胞核较大(图版II:A, B)。初生壁细胞分裂分化成两层次生周缘细胞(图版II:A)。外侧次生周缘细胞分裂分化形成药室内壁和中层外层细胞,内侧次生周缘细胞分裂分化形成中层内层和绒毡层细胞(图版II:B)。维管组织和药隔薄壁细胞已形成(图版II:B)。

(2) 小孢子母细胞时期

小孢子母细胞刚形成时,染色均匀,体积增大,细胞间隙变大,尚未形成胼胝质壁(图版II:C)。随后小孢子母细胞呈圆形,积累胼胝质壁(图版II:D)。分化完全的花药四室,呈蝶形(图版II:C)。花药壁由外到内依次是表皮、药室内壁、中层(2层)和绒毡层(图版II:C)。表皮、药室内壁和中层细胞排列整齐,细胞染色均匀(图版II:C)。绒毡层细胞与小孢子母细胞紧密相连,细胞

质染色均匀，个别细胞中有大液泡(图版Ⅱ：C)。然而，小孢子母细胞胼胝质积累时，表皮和药室内壁细胞质的细胞核被大液泡挤到一侧(图版Ⅱ：D)。中层内层细胞降解，靠近维管组织中层内层细胞依然清晰可见，中层外层细胞呈扁平状(图版Ⅱ：D)。绒毡层液泡化，体积增大，细胞核大，核仁明显(图版Ⅱ：D)。

(3) 四分体时期

小孢子母细胞减数分裂第一次分裂后不形成细胞壁，只形成2个细胞核，减数分裂第二次分裂时2个细胞核同时分裂，最后在4个细胞核之间形成细胞壁，形成四面体排列的四分体(图版Ⅱ：E，F)。四分体时期的小孢子染色深且均匀，核仁明显(图版Ⅱ：F)。四分体形成过程中，中层外层细胞降解(图版Ⅱ：E)，但到四分体时期仍有残留(图版Ⅱ：F)。绒毡层持续液泡化(图版Ⅱ：F)。

(4) 单核小孢子早期

刚释放的小孢子，呈三角形，只具内壁，细胞质染色均匀，细胞核位于小孢子中央，故又称单核中位期(图版Ⅱ：G)。此时，花粉囊增大，药室内壁细胞增大，中层细胞沿花粉囊辐射状伸长(图版Ⅱ：G)。增大的花粉囊，为花粉的进一步发育提供了空间。绒毡层细胞远离小孢子，染色较深，出现明显的质壁分离现象(图版Ⅱ：G)。

(5) 单核小孢子晚期

小孢子体积增大并液泡化，细胞质和细胞核被挤到小孢子的边缘，又称为单核靠边期(图版Ⅱ：H)。此时期形成了小孢子花粉外壁，小孢子具有3个萌发孔，分别位于三角形花粉的3个角(图版Ⅱ：H)。随着花药室的增大，表皮细胞更加扁平，中层细胞只具降解的残余(图版Ⅱ：H)。绒毡层细胞具大液泡，细胞核变形，有降解的迹象(图版Ⅱ：H)。

2.3 倒地铃雄花和假两性花花药发育过程的不同特征

进入两核花粉粒时期，雄花和假两性花的花药结构差异越来越明显，两者表现出不同的特征。

(1) 两核花粉粒时期

雄花小孢子细胞核进行一次不均等分裂，形成了一个大的营养细胞和一个紧贴花粉壁的小生殖细胞(图版Ⅱ：I)。随后生殖细胞逐渐由边缘移动至小孢子中央，整个生殖细胞浸润在细胞质浓厚的营

养细胞中(图版Ⅱ：J)。刚进入两核花粉粒时，药室内壁细胞径向壁和内切向壁已开始出现不均匀的次生壁加厚(图版Ⅱ：I)。中层细胞有残留，绒毡层细胞进一步降解，细胞核严重变形(图版Ⅱ：I)。当生殖细胞移向花粉粒中央时，药室内壁已完全加厚，绒毡层细胞质减少(图版Ⅱ：J)。

与雄花相比，此时假两性花花粉粒存在明显的小液泡，细胞质收缩，偶见空花粉粒(图版Ⅱ：M)。随后，花粉粒液泡化程度增加，细胞质收缩更严重，具有降解现象(图版Ⅱ：N)。进入两核花粉粒时期，药室内壁细胞次生壁加厚只停留在靠近维管组织的药室内壁细胞(图版Ⅱ：N)。绒毡层细胞质比雄花明显少(图版Ⅱ：I，M)。当生殖细胞移到花粉粒中央时，假两性花绒毡层细胞已基本降解，仅剩细胞壁和少量细胞质。(图版Ⅱ：J，N)。

(2) 成熟花粉粒时期

雄花成熟的花粉粒为两核花粉粒(图版Ⅱ：K)。营养物质丰富，染色较深(图版Ⅱ：K)。花药裂口区发育，2个花药室连通成一个大的花药室(图版Ⅱ：K)。中层细胞有残留，绒毡层细胞基本降解(图版Ⅱ：K，Q)。开花时，花药从裂口区开裂，散出花粉，此时花粉粒染色深，充满大量淀粉粒和油滴(图版Ⅱ：R)。

与雄花相比，此时假两性花成熟花粉粒细胞质明显皱缩，严重液泡化(图版Ⅱ：O)。药室内壁加厚未扩大，具唇形细胞，同侧花粉囊连接组织细胞原生质体降解仅残留细胞壁，但未连通(图版Ⅱ：O，S)。中层细胞有残留，绒毡层细胞具降解后的残余(图版Ⅱ：O)。开花时，假两性花的花粉囊收缩变形，花粉粒畸形，细胞质严重皱缩，缺乏营养物质，花粉壁内壁部分降解(图版Ⅱ：P，T)。花药保持四室花粉囊，不开裂(图版Ⅱ：P)。

3 讨论

3.1 倒地铃功能性单性花分化过程

倒地铃花蕾发育早期(花蕾长度小于1.1 mm)为两性花阶段。当花蕾长度为1.2~1.3 mm时，大部分“两性花”中的雌蕊发育停滞甚至退化，形成雄花。小部分“两性花”雌雄蕊正常发育。此时雄花和假两性花开始分化，但从花蕾外部形态仍无法区别。当花蕾长度为1.6~1.8 mm时，假两性花雌蕊体积不断增大，雄花雌蕊进一步退化，仅从

花蕾形态上即可区别雄花和假两性花。因此,我们认为雌蕊的发育状况是区分倒地铃雄花和假两性花的关键。

性别分化过程的形态学研究表明,大多数单性花植物在形态分化早期都经历“两性时期”^[23],其中一种性别在特定的阶段发育停滞甚至退化,使这种生殖器官败育而丧失功能,这种停滞在不同种类植物中往往在花发育的不同阶段发生,例如玉米(*Zea mays* Linn.)是在雌雄分化的早期^[24];白麦瓶草(*Silene latifolia* Linn.)是在出现雌、雄蕊后的发育中期^[25];芦笋(*Asparagus officinalis* Linn.)则出现在大孢子和小孢子的发生期^[26]。倒地铃单性花也是两性花蕾发育后期相应性别器官发育停滞甚至退化形成的,即在小孢子液泡化之前,同一朵花中雄蕊和雌蕊都正常发育,两核花粉粒时期大部分“两性花”中的雌蕊发育停滞,形成雄花。此时,小部分“两性花”雌蕊和雄蕊都在正常发育,直到进入双核花粉粒之后“两性花”的花药才开始败育,形成假两性花,即功能性的雌花,这与文冠果花的分化过程相似^[5]。然而,进入双核花粉粒之后,雌、雄蕊已分化形成,故推测倒地铃假两性花的形成不仅仅是发育停滞,其雄性功能的退化可能与细胞程序性死亡有关^[27]。

至于无患子科雌花中无功能雄蕊存在的意义有不同的看法,如Mayer等^[28]研究认为可能起到吸引传粉者的作用;Cane^[29]研究认为雌花中无功能的雄蕊不具有吸引传粉者的作用,也不会发育成有功能的雄蕊,而会在未来的进化过程中逐渐退化消失,最终发育成单性花。倒地铃开花时,雄花和假两性花均具蜜导和蜜腺,且所处位置和结构相似(图版I:i,j),故我们认为假两性花不育雄蕊吸引传粉者的可能性更大。

3.2 倒地铃雄花和假两性花花药的相似发育过程

与吕雪芹等^[9]对文冠果的研究结果一致,本研究发现倒地铃在两核花粉粒时期之前,雄花和假两性花的花药发育过程相似。倒地铃花药具有4个花粉囊、呈蝶形,分别位于药隔薄壁组织和维管束的两侧,其发育完好的花药壁细胞从外到内依次是:表皮、药室内壁、中层(2层)和绒毡层。与*Allophylus zeylanicus* Linn.^[30]和*Lepidopetalum jackianum* Radlk.^[31]双子叶型花药壁发育不同的是,倒地铃花药壁发育为基本型。同时与*Cardio-*

spermum grandiflorum Swartz.^[6]、*Urvillea chacoensis* Hunz.^[6]、*Delavaya toxocarpa* Franch.^[32]和*Handeliodendron bodinieri* (Levl.) Rehd.^[2]相似,倒地铃具有典型的单核分泌型绒毡层,小孢子母细胞减数分裂的方式为同时型,四分体为四面体形,未见四角形四分体^[33]。其花粉粒成熟时为两核。

3.3 假两性花的雄性不育

植物雄性不育表型多样,如:雄性器官缺失、造孢组织发育异常、花粉粒在发育各个阶段的降解及花药不开裂等^[34]。从已有的研究^[6-9]可知,无患子科雌花中雄蕊不育主要与花药中层残留、药室内壁加厚、绒毡层降解、连接同侧2个花粉囊的药隔薄壁组织有关。倒地铃雄花和假两性花成熟花药中都存在中层残留,二者并无差异,与Solís等^[6]的观点不同,我们认为倒地铃中层细胞残留不是影响假两性花花粉粒败育和花药不开裂的原因。

绒毡层是花药壁的最内层孢子体细胞,可将孢子体的营养物质转运至雄配子体,对花粉粒的发育至关重要^[35, 36]。红菜薹(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Linn. var. *utilis* Tsen et Lee.)萝卜细胞质雄性不育系花药绒毡层细胞挤压四分体,导致四分体和绒毡层同时解体而败育^[37];大白菜(*B. campestris* Linn. ssp. *pekinensis*)新型细胞质雄性不育系6w-9605A的绒毡层细胞异常肥大,挤压小孢子,导致小孢子和绒毡层解体^[38];绒毡层提早解体导致鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)雄性不育^[39]。与前人对文冠果^[9]、*Melicoccus lepidopetalus* Hunz.^[7]及*Cardiospermum grandiflorum* Swartz.^[6]和*Urvillea chacoensis* Hunz.^[6]的研究结果不同,本研究中倒地铃在两核花粉粒早期,假两性花绒毡层细胞质少,且降解速度较快,导致其花粉粒营养供应不足而降解,我们认为绒毡层在两核花粉粒时期的较快降解应是两性花雄性不育的原因之一;进入两核花粉粒之后,假两性花花粉粒出现液泡化、细胞质皱缩等降解现象,且开花时花粉粒畸形,细胞质稀少,花粉内壁部分降解。因此,我们推测倒地铃的假两性花花粉粒可能经历了细胞程序性死亡的过程。

药室内壁次生加厚、裂口区发育以及药隔连接组织的降解是花药开裂的重要条件^[27, 40-42]。与*Melicoccus lepidopetalus* Hunz. 雌花花药药室内

壁不加厚不同^[7]，倒地铃的假两性花药室内壁次生壁加厚不完全；与文冠果^[8]的孕花不具唇形细胞不同，倒地铃的假两性花花药具唇形细胞。倒地铃假两性花花药同侧2个花粉囊之间的连接组织的细胞质降解，但其细胞壁未降解，导致花药同侧花粉囊未连通，开花时假两性花花药依然维持四室并且不开裂。本研究认为，倒地铃假两性花药室内壁加厚不完全和连接组织壁不降解应该是花药不开裂的原因。

参考文献：

- [1] 刘玉壶, 罗献瑞, 吴容芬, 陈德昭. 中国植物志: 第47卷, 第1册[M]. 北京, 科学出版社, 1985: 1-4.
- [2] Lu XR, Luo XR, Wu RF, Chen DZ. Flora of China: Vol. 47 (1) [M]. Beijing: Science Press, 1985: 1-4.
- [3] Cao LM, Xia NH, Deng YF. Embryology of *Handeliodendron bodinieri* (Sapindaceae) and its systematic value: development of male and female gametophytes [J]. *Plant Syst Evol*, 2008, 274(1-2): 17-23.
- [4] Ji ZL, Li PW, Liang LF, Chen CX, Zhao XD, Zheng GL. A preliminary observation on the flower bud initiation of litchi [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1984, 11(2): 134-137.
- [5] 王宏国. ‘龙眼’花性分化的细胞学机制研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [6] Wang HG. Study on cytology mechanism of flower sexual differentiation in longan (*Dimocarpus longan* Lour.) [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008.
- [7] 张敏, 王頤, 张雷, 吕雪芹, 唐亮, 王莉. 文冠果雌雄花发育过程形态结构比较[J]. 电子显微学报, 2012, 31(2): 154-162.
- [8] Zhang M, Wang D, Zhang L, Lv XQ, Tang L, Wang L. Female and male flower differentiation in *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2012, 31(2): 154-162.
- [9] Solís SM, Galati B, Ferrucci MS. Microsporogenesis and microgametogenesis of *Cardiospermum grandiflorum* and *Urvillea chacoensis* (Sapindaceae, Paullinieae) [J]. *Aust J Bot*, 2010, 58(7): 597-604.
- [10] Zini LM, Galati GB, Solís SM, Ferrucci MS. Anther structure and pollen development in *Melicoccus lepidopetalus* (Sapindaceae): An evolutionary approach to dioecy in the family [J]. *Flora*, 2012, 207(10): 712-720.
- [11] Peng WX, Li FL. The study on the sterile anther and pollen of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1999, 22(3): 35-37.
- [12] 吕雪芹, 张敏, 王頤, 王莉. 文冠果可孕花与不孕花发育过程的比较研究[J]. 植物研究, 2014, 34(1): 85-94.
- [13] Lü XQ, Zhang M, Wang D, Wang L. Comparative study on the bisexual flower and unisexual male flower of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2014, 34(1): 85-94.
- [14] 胡熙明, 张文康, 朱庆生. 中华本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1999: 43-44.
- [15] Hu XM, Zhang WK, Zhu QS. *Chinese Materia Medica* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1999: 43-44.
- [16] Huang MH, Huang SS, Wang BS, Wu CH, Sheu MJ, Hou WC, Huang GJ. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Cardiospermum halicacabum* and its reference compounds ex vivo and in vivo [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2): 743-750.
- [17] Rao NV, Prakash KC, Kumar SMS. Pharmacological investigation of *Cardiospermum halicacabum* (Linn) in different animal models of diarrhoea [J]. *Indian J Pharmacol*, 2006, 38(5): 346-349.
- [18] Annadurai A, Elangovan V, Velmurugan S, Ravikumar R. Preliminary phytochemical screening and antibacterial of *Cardiospermum halicacabum* L. [J]. *Adv Appl Sci Res*, 2013, 4(5): 302-308.
- [19] Malaviya S, Nandakumar K, Vaghasiya JD, Bhalodiya YS, Jivani NP, Sheth N, Chauhan S. Anxiolytic activity of root extracts of *Cardiospermum halicacabum* in mice [J]. *Int J Pharmacol*, 2009, 7: 1-6.
- [20] Veeramani C, Pushpavalli G, Pugalendi KV. Antihyperglycaemic effect of *Cardiospermum halicacabum* Linn. leaf extract on STZ-induced diabetic rats [J]. *J Appl Biomed*, 2008, 6(1): 19-26.
- [21] 陈君, 韦建华, 苗伟生, 蔡少芳, 张宏键. 倒地铃急性毒性及降血糖作用的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1083-1085.
- [22] Chen J, Wei JH, Miao WS, Cai SF, Zhang HJ. Experimental study on hypoglycemic activity and acute toxicity of *Cardiospermum halicacabum* L. [J]. *Lishezhen Medicine and Materia Medica Research*, 2012, 23(5): 1083-1085.
- [23] Peiris LDC, Dhanushka MAT, Jayathilake TAHDG. Evaluation of aqueous leaf extract of *Cardiospermum halicacabum* (L.) on fertility of male rats [J]. *Biomed Res Int*, 2015. doi: 10.1155/2015/175726.
- [24] 韦建华, 陈君, 蔡少芳, 卢汝梅, 林世炜. 倒地铃化学成分研究(I)[J]. 中草药, 2011, 42(8): 1509-1511.
- [25] Wei JH, Chen J, Cai SF, Lu RM, Lin SW. Chemical constituents whole herb of *Cardiospermum halicacabum* (I) [J]. *Chinese Traditional and Herb Duegs*, 2011, 42(8): 1509-1511.

- [19] 陈君, 韦建华, 蔡少芳, 苗伟生, 潘立卫. 倒地铃有效部位化学成分研究[J]. 中药材, 2013, (2): 228–230.
- Chen J, Wei JH, Cai SF, Miao WS, Pan LW. Study on chemical constituents of *Cardiospermum halicacabum*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2013, (2): 228–230.
- [20] Weckerle CS, Rutishauser R. Gynoecium, fruit and seed structure of Paullinieae (Sapindaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 2005, 147(2): 159–189.
- [21] Rao TVR, Dave Y. Morpho-histogenetic studies in the pericarp of *Cardiospermum halicacabum* L. (Sapindaceae) [J]. *Acta Bot Hung*, 2005, 47(3/4): 419–424.
- [22] Sanders PM, Bui AQ, Weterings K, McIntire, KN, Hsu YC, Lee PY, Goldberg RB. Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants[J]. *Sex Plant Reprod*, 1999, 11(6): 297–322.
- [23] Dellaporta SL, Calderon Urrea A. Sex determination in flowering plants[J]. *Plant Cell*, 1993, 5(10): 1241–1251.
- [24] Cheng PC, Greysen RI, Walden DB. Organ initiation and the development of unisexual flowers in the tassel and ear of *Zea mays*[J]. *Am J Bot*, 1983; 450–462.
- [25] Grant S, Hunkirchen B, Saedler H. Developmental differences between male and female flowers in the dioecious plant *Silene latifolia*[J]. *Plant J*, 1994, 6(4): 471–480.
- [26] Caporali E, Carboni A, Galli MG, Rossi G, Spada A, Longo GM. Development of male and female flower in *Asparagus officinalis*. Search for point of transition from hermaphroditic to unisexual developmental pathway [J]. *Sex Plant Repod*, 1994, 7(4): 239–249.
- [27] Varnier AL, Mazeyrat-Gourbeyre F, Sangwan RS, Clément C. Programmed cell death progressively models the development of anther sporophytic tissues from the tapetum and is triggered in pollen grains during maturation [J]. *J Struct Biol*, 2005, 152(2): 118–128.
- [28] Mayer SS, Charlesworth D. Cryptic dioecy in flowering plants[J]. *Trends Ecol Evol*, 1991, 6(10): 320–325.
- [29] Cane JH. Reproductive role of sterile pollen in cryptically dioecious species of flowering plants[J]. *Curr Sci*, 1993, 65: 223–225.
- [30] Mathur S, Gulati N. Embryological studies in *Allophylus zeylanicus* Linn. [J]. *Indian J Bot*, 1989, 12: 62–65.
- [31] Mathur S, Gulati N. Embryology of *Lepidopetalum jackianum* Hiern[J]. *Indian J Bot*, 1981, 4: 216–221.
- [32] Cao LM, Cao M, Liu JH, Wang ZX, Lin Q, Xia NH. Sporogenesis and gametogenesis of *Delavaya toxocarpa* (Sapindaceae) and their systematic implications [J]. *J Syst Evol*, 2014, 52(4): 533–539.
- [33] Nair NC, Joseph J. Morphology and embryology of *Cardiospermum halicacabum*[J]. *J Indian Bot Soc*, 1960, 39: 176–194.
- [34] Budar F, Pelletier G. Male sterility in plants: occurrence, determinism, significance and use [J]. *C R Acad Sci Paris, Sciences de la Vie*, 2001, 324(6): 543–550.
- [35] 胡适宜. 被子生殖生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 33–43.
- Hu SY. *Reproductive Biology of Angiosperms* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2005: 33–43.
- [36] Papini A, Mosti S, Brighigna L. Programmed-cell-death events during tapetum development of angiosperms [J]. *Protoplasma*, 1999, 207(3–4): 213–221.
- [37] 田福发, 徐跃进, 袁黎, 陈建军. 红菜薹雄性不育系花药败育的细胞形态学观察[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(3): 269–272.
- Tian FF, Xu YJ, Yuan L, Chen JJ. The cytomorphology study of anther abortion in male-sterile lines of Hong Cai-tai (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinenisi* L. var. *utilis* Tsen et Lee.)[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2004, 22(3): 269–272.
- [38] 施展, 万正杰, 徐跃进, 邹瑞昌, 黄涛, 傅廷栋. 大白菜新型细胞质雄性不育系6w-9605A的育性鉴定和花药败育的细胞学观察[J]. 植物科学学报, 2012, 30(1): 49–54.
- Shi Z, Wan ZJ, Xu YJ, Zou RC, Huang T, Fu TD. Fertility and cytomorphology of anther in new cytoplasmic male-sterile lines of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*) [J]. *Plant Science Journal*, 2012, 30(1): 49–54.
- [39] 李爱民, 徐刚红, 沈美珍. 鱼腥草的花粉活力及雌雄配子体的发育[J]. 植物科学学报, 2014, 32(6): 561–566.
- Li AM, Xu GH, Shen MZ. Pollen viability and female gametophyte development in *Houttuynia cordata* Thunb. [J]. *Plant Science Journal*, 2014, 32(6): 561–566.
- [40] 向珣, 曹家树, 叶纨芝, 崔辉梅, 俞建浓. 白菜OguCMS相关MYB家族新基因BcMYBogu的克隆与特征分析[J]. 遗传, 2007, 29(5): 621–628.
- Xiang X, Cao JS, Ye WZ, Cui HM, Yu JN. Molecular cloning and characterization of *BcMYBogu*, a nove member of MYB family involved in OguCMS in *Brassica campestris* ssp. *Chinensis*[J]. *Hereditas*, 2007, 29(5): 621–628.
- [41] Beals TP, Goldberg RB. A novel cell ablation strategy blocks tobacco anther dehiscence[J]. *Plant Cell*, 1997, 9(9): 1527–1545.
- [42] Senatore A, Trobacher CP, Greenwood JS. Ricinosomes predict programmed cell death leading to anther dehiscence in tomato[J]. *Plant Physiol*, 2009, 149(2): 775–790.

图版说明

图版 I : 花发育过程形态观察。

A ~ H: 花蕾形态观察。A, B: 两性花; C, E, G: 雄花; D, F, H: 假两性花。a ~ h: 花蕾(A ~ H)去除花被后的雄蕊和雌蕊形态。a, b: 两性花; c, e, g: 雄花; d, f, h: 假两性花。I: 开花时雄花; J: 开花时假两性花; i: 雄花蜜腺, 红色箭头指蜜腺; j: 假两性花蜜腺, 红色箭头指花蜜腺。

图版 II : 雄花和假两性花花药发育过程的光镜和透射电镜观察。

SPC: 次生周缘细胞; SSC: 次生造孢细胞; EP: 表皮细胞; V: 维管束; C: 药隔连接组织; EN: 药室内壁; ML: 中层细胞; TA: 绒毡层; MMC: 小孢子母细胞; YMS: 刚形成的小孢子。A ~ H: 雄花和假两性花的共同发育过程。A: 次生周缘细胞和次生造孢细胞期; B: 正在发育的花药壁细胞, 红色箭头示正在分裂的细胞; C: 小孢子母细胞(不具胼胝质壁), 黑色箭头示绒毡层中的大液泡; D: 小孢子母细胞(具胼胝质壁); E: 减数分裂, 黑色箭头示正在分裂的小孢子母细胞; F: 四分体, 红色箭头示中层; G: 刚释放的小孢子, 红色箭头示绒毡层; H: 小孢子液泡化, 红色箭头示变形的细胞核。I ~ L: 雄花花药发育。I: 两核花粉粒早期, 红色箭头示生殖细胞和营养细胞的细胞核; J: 两核花粉粒后期, 红色箭头示生殖细胞和营养细胞的细胞核; K: 即将开裂花药, 黑色箭头示营养细胞的细胞核和生殖细胞; L: 开裂的花药, 黑色箭头示残留中层细胞。M ~ P: 假两性花花药发育。M: 两核花粉粒早期, 红色箭头示生殖细胞和营养细胞的细胞核; N: 两核花粉粒后期, 黑色箭头示绒毡层, 红色箭头示生殖细胞和营养细胞的细胞核; O: 即将开花时花药, 黑色箭头示残留的中层细胞, 红色箭头示唇形细胞; P: 开花时, 花药开裂。Q ~ T: 雄花和假两性花花药壁和花粉粒电镜照片。Q: 开花时雄花花药壁, 黑色箭头示绒毡层; R: 雄花成熟花粉粒; S: 假两性花即将开花时药隔细胞; T: 开花时假两性花花药壁细胞和花粉粒, 黑色箭头示绒毡层。

Explanation of plate

Plate I : Morphological observation of flowers in different developmental stages.

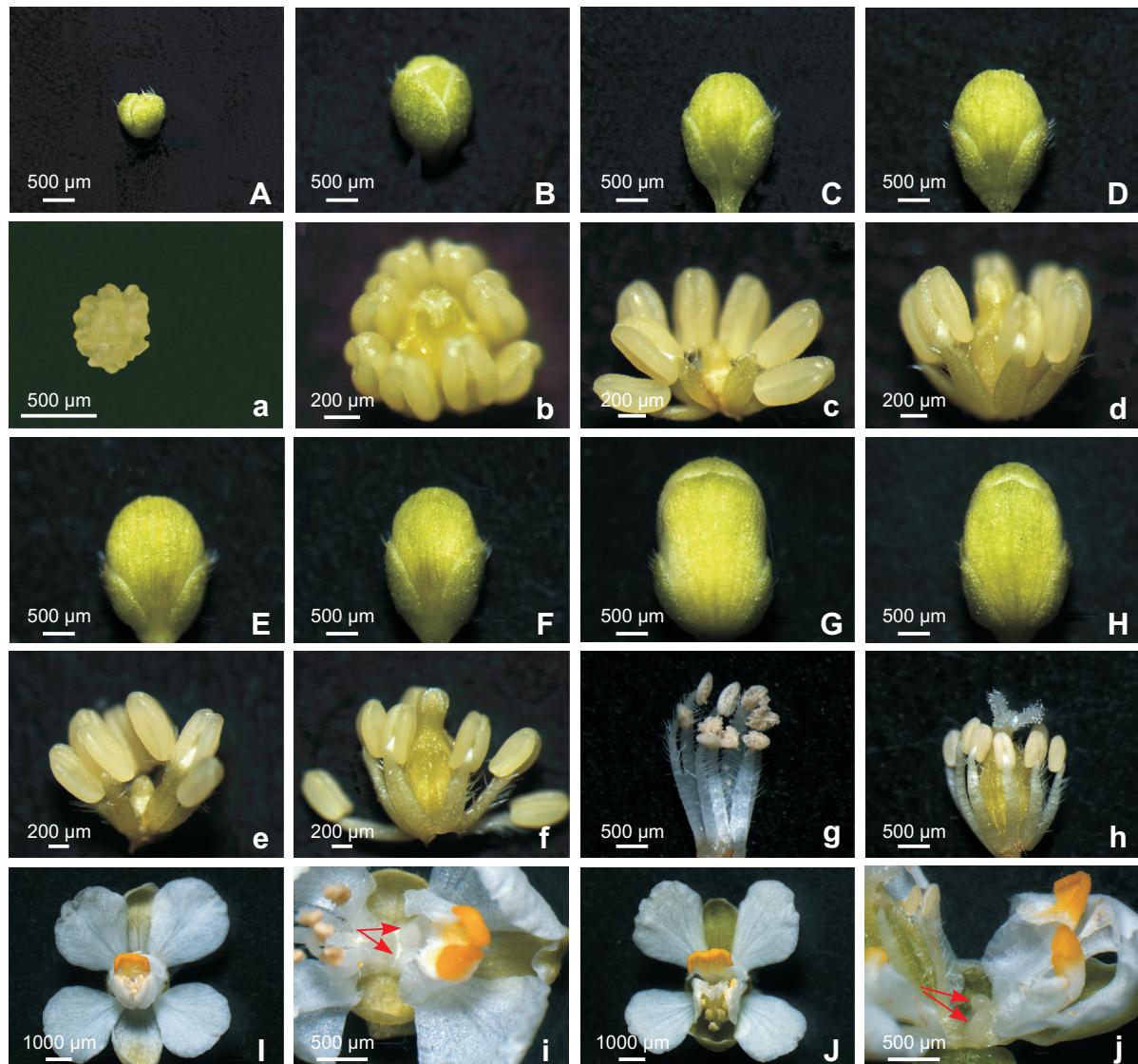
A - H: Flower buds. A, B: Bisexual flower buds; C, E, G: Staminate flower buds; D, F, H: Pseudo-bisexual flower buds. a - h: Stamen and pistil, which correspond with A - H, respectively. a, b: Bisexual flower buds; c, e, g: Staminate flower buds; d, f, h: Pseudo-bisexual flower buds. I: Staminate flower; J: Pseudo-bisexual flower; i: Floral nectary of staminate flower. red arrow indicates nectary; j: Floral nectary of pseudo-bisexual flower, red arrow indicates nectary.

Plate II : Light and transmission electron micrographs at different developmental stages of the anther in staminate and pseudo-bisexual flowers.

SPC: Secondary parietal cell; SSC: Secondary sporogenous cell; EP: Epidermis; V: Vascular bundle; C: Connective tissue; EN: Endothecium; ML: Middle layer; TA: Tapetal; MMC: Microspore mother cell; YMS: Young microspore. A - H: Same developmental process in staminate and pseudo-bisexual flowers. A: Anther primordium; B: Anther wall developmental stage, red arrows show mitosis cells; C: Microspore mother cell (without callose wall), black arrow shows tapetal cells; D: Microspore mother cell (with callose wall); E: Meiosis of microspore mother cell, black arrow shows dividing microspore mother cell; F: Tetrad stage, red arrow shows middle layers; G: Young microspore stage, red arrow shows tapetal cells; H: Vacuolization of microspore, red arrow shows deformed nucleus. I - L: Developmental stages of anther in staminate flower. I: Early stage of two-celled pollen, red arrow shows generative cell and vegetative cell nucleus; J: Later stage of two-celled pollen, red arrow shows generative cell and vegetative cell nucleus; K: Non-dehiscence anther, black arrow shows generative cell and vegetative cell nucleus; L: Dehiscence anther, black arrow shows middle layers. M - P: Developmental stages of anther in pseudo-bisexual flower. M: Early stage of two-celled pollen, red arrow shows generative cell and vegetative cell nucleus; N: Later stage of two-celled pollen, black arrow shows tapetal cells, red arrow shows generative cell and vegetative cell nucleus; O: Non-dehiscence anther, black arrow shows middle layers, and red arrow shows lip cells; P: At anthesis, non-dehiscence anther. Q - T: Transmission electron micrographs of anther wall and mature pollen grain in staminate and pseudo-bisexual flowers. Q: Anther wall of staminate flower at anthesis, black arrow shows tapetal; R: Mature pollen grain of staminate flower; S: Septum of pseudo-bisexual flower before anthesis; T: Anther wall and mature pollen grain of pseudo-bisexual flower at anthesis, black arrow shows tapetal cells.

全盼盼等: 图版 I

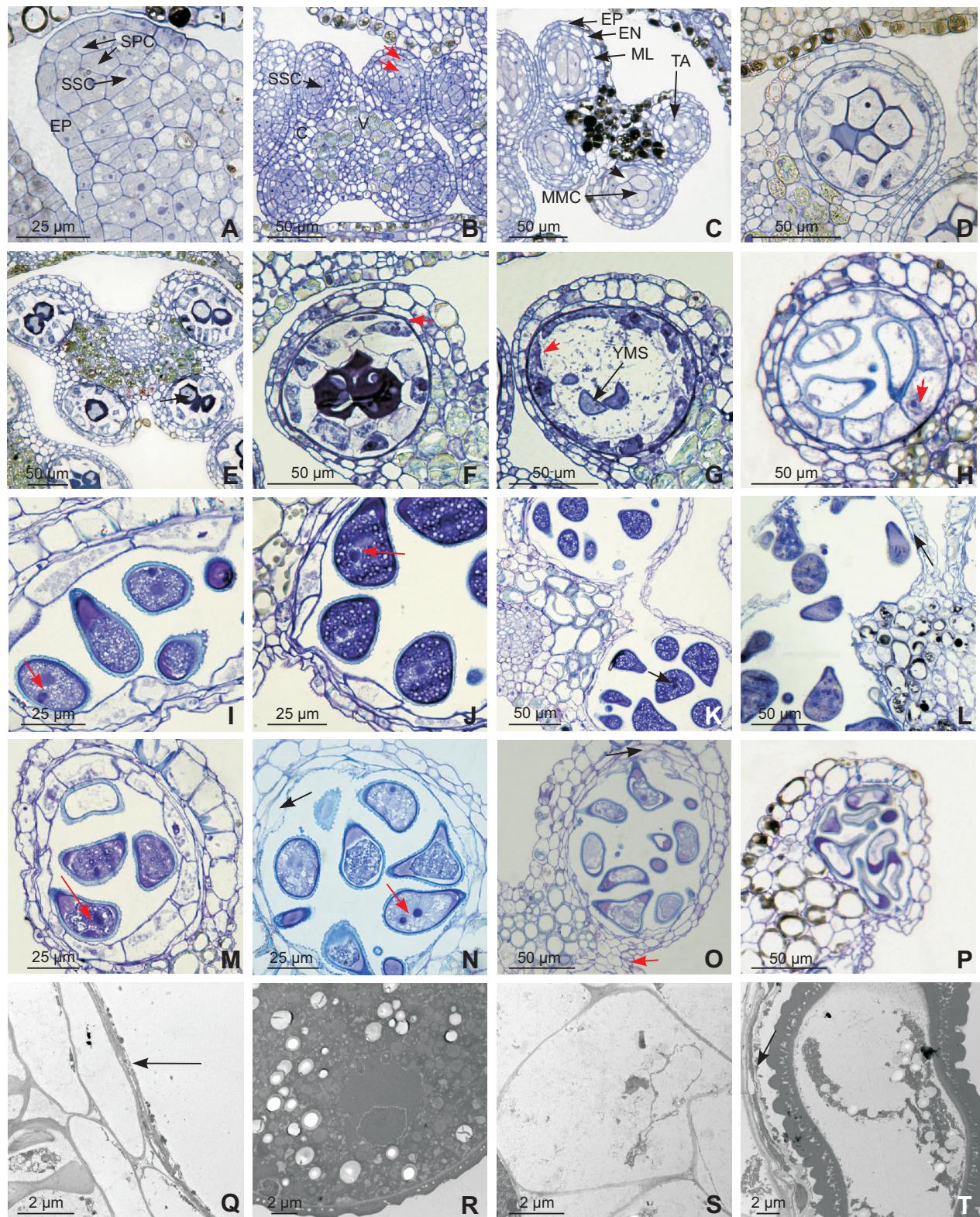
TONG Pan-Pan et al.: Plate I



See explanation at the end of text

全盼盼等: 图版II

TONG Pan-Pan et al.: Plate II



See explanation at the end of text

(责任编辑:张平)