

空心莲子草雄蕊和雌化雄蕊发育的比较研究

胡法玉¹, 常青山², 张利霞², 袭梅¹, 王庆亚^{1*}

(1. 南京农业大学 生命科学院, 南京 210095; 2. 南京农业大学 园艺学院, 南京 210095)

摘要: 采用形态解剖和石蜡切片法, 对空心莲子草雄蕊和雌化雄蕊的形态和结构的发育过程进行了观察。结果显示: (1) 在形态上, 空心莲子草两性花雄蕊由聚药雄蕊和无药雄蕊构成, 二者相间而生成一轮; 而空心莲子草雌化雄蕊花的雌化雄蕊由雌化雄蕊和无药雄蕊构成, 雌化雄蕊的外形如雌蕊状, 其外轮为无药雄蕊, 二者前后对应而生, 成二轮; (2) 在结构上, 空心莲子草两性花雄蕊的每个花药具两个花粉囊, 花药壁由表皮、药室内壁、中层和绒毡层组成, 花粉母细胞减数分裂形成的四分体有四面体型和左右对称型, 成熟花粉粒为3核, 但后期大量解体, 新鲜花粉粒经生活力测定无活性; 雌化雄蕊花雌化的雄蕊有柱头、花柱和子房, 但子房室内无胚珠状结构, 仅为一个空腔。

关键词: 空心莲子草; 雄蕊; 雌化雄蕊

中图分类号: Q944.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)04-0444-07

Comparative study on the development of stamen and feminisation stamens of *Alternanthera philoxeroides*

HU Fa-Yu¹, CHANG Qing-Shan², ZHANG Li-Xia²,
XI Mei¹, WANG Qing-Ya^{1*}

(1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The morphology structure development of stamen and feminisation stamen of *Alternanthera philoxeroides* were observed by the methods of morphology anatomy and paraffin section. The results showed that: (1) In the morphology, stamen of bisexual flower of *A. philoxeroides* consisted of staminodium and synantherous stamen, which were interval in a wheel; while feminisation stamen of feminisation stamen flower of *A. philoxeroides* consisted of staminodium and feminisation stamen, which looked like pistil, staminodium beside the feminisation stamen in the outer wheel. (2) In the structure, each anther of bisexual flower of *A. philoxeroides* had two pollen sac, and the anther wall was composed of four layers: epidermis, endothecium, middle layer and tapetum. The tetrads were formed in meiosis of pollen mother cells, which shaped as tetrahedral and bilateral symmetry. The mature pollen was of 3 celled types, which disintegrated at the post-maturation stage. Fresh pollen had no activity through viability determination; feminisation stamen of *A. philoxeroides* were composed of stigma, style and ovary, however, the locule had no ovule, just a cavity.

Key words: *Alternanthera philoxeroides*; stamen; Feminisation stamen

空心莲子草 (*Alternanthera philoxeroides*) 又名空心苋、革命草、喜旱莲子草等, 属苋科 (Amaranthaceae) 莲子草属 (*Alternanthera*); 英文名: Alliga-

tor weed. 该草原产美洲的巴西、乌拉圭、阿根廷等国 (Madhusoodanan 等, 1993), 现为一种难除的恶性入侵杂草。目前对空心莲子草解剖结构的研究主

收稿日期: 2010-07-17 修回日期: 2011-05-28

基金项目: 江苏省环保科技项目 (T2008-01, R201061) [Supported by the Project of Environmental Protection Science and Technology in Jiangsu Province. (T2008-01, R201061)]

作者简介: 胡法玉 (1982-), 女, 河南信阳人, 硕士, 主要从事资源植物学研究, (E-mail) hufayu-2008@163.com.cn.

* 通讯作者: 王庆亚, 教授, 研究方向为资源植物学, (E-mail) wangqy@njau.edu.cn; qingyawang@yahoo.com.cn.

要集中于根、茎和叶(娄远来等,2004),尚未涉及到花。而笔者经观察发现,空心莲子草花雄蕊雌化(Femimisation of stamens)的现象普遍存在,早在1964年陈倬就已报道,但至今仍未有花器官形态和结构发育过程的相关报道。空心莲子草因以无性繁殖为主,故有性器官常不被关注,而只有全面了解其各部分器官的特性,才能更好、更有效地达到防除目的。那么空心莲子草的雄蕊和雌化雄蕊在生长过程中,二者存在着怎样的差别?本文通过形态解剖和石蜡切片法,对空心莲子草雄蕊和雌化雄蕊进行了初步的观察研究,以期有效防除,及了解和研究空心莲子草花的发育及雄蕊雌化机理提供资料。

1 研究的材料和方法

1.1 研究材料

南京农业大学附近陆生空心莲子草的两性花器官和雌化雄蕊花器官。

1.2 研究方法

5~6月中下旬,在长势良好、无病虫害的陆生空心莲子草植株中,先后4次分别采取新鲜的不同发育阶段的两性花和雌化雄蕊花若干,一方面用于在Zeiss Stemi2000-C体视显微镜下解剖,以观察两类型不同发育阶段的形态变化并拍照;另一方面用于在FAA固定液中直接保存,按照常规石蜡切片法制片,切片厚度8~10 μm,铁矾-苏木精-固绿对染,加拿大树胶封片,Zeiss Axio Imager. A1荧光正置显微镜下观察拍照。

6月中下旬,于晴天早上9:00~10:00时从两性花上采集大量新鲜成熟的花粉,一部分新鲜成熟的花粉置于30℃温箱中烘干,然后用戊二醛固定,按照扫描电子显微镜的制样流程制片,在日立S-3000N扫描电子显微镜下观察花粉外壁并拍照;另一部分新鲜成熟的花粉采用联苯胺染色法对花粉粒的生活力进行测定(任列花等,2005)。在荧光正置显微镜(×10)下镜检,每张玻片选3~5个视野,重复3次,显红色的为有生活力的花粉,黄色或透明的均为无生活力的花粉。

2 结果分析

2.1 空心莲子草花序的发生顺序

空心莲子草2月中下旬地下储存根开始萌芽,3

月进行营养生长,4月中旬即向生殖生长转变,首先是在茎顶端生长点处形成花序原基,随着茎尖生长点的快速生长,萌发茎顶芽,花序的着生方式则由顶生变为侧生。随着花轴不断地向上分化,苞片和小花按照由基部轮状向上发生的顺序形成一个具总花梗的头状花序(图版Ⅳ:3),花柄也随着花序的生长而伸长。上、下花序间约有3~4个茎节。空心莲子草两类型花具有同样的花序分化顺序。

2.2 空心莲子草两性花和雄蕊雌化花花芽形态分化过程比较

2.2.1 空心莲子草两性花花芽形态分化过程 花原基由花序原基分裂产生(图版Ⅰ:1),大的为花序原基,小的为小花原基。小花原基经不断分裂分别产生5枚花萼原基、花瓣原基、雄蕊原基和1枚雌蕊原基,早期的雄蕊愈合为柱形结构(图版Ⅰ:2),在花器官形成中期(图版Ⅰ:3),柱形结构已发育成聚药雄蕊(图版Ⅰ:4),无药雄蕊顶端分裂成3~4窄条,二者相间排列,基部联合并生成杯状,花药背着于花丝(图版Ⅰ:5),都为青绿色,雄蕊高于雌蕊。发育成熟后,花药由青绿色转为黄色,纵裂释放花粉(图版Ⅰ:6),花粉粒呈球状(图版Ⅰ:7),花粉外壁具规则一致的网状雕纹,网眼大小相同,呈圆形,网线和网眼上都有很小的突起物,网眼内分布较为均匀(图版Ⅰ:8),此时,雄蕊依然高于雌蕊,柱头抵达花药的中下部,花丝为白色,柱头由青色转为白色,花柱也由青色转为紫红色。

2.2.2 雌化雄蕊花芽形态分化过程 雌化雄蕊花的花序原基分化前期与两性花在外形上无法区分(图版Ⅰ:1;图版Ⅱ:1),都是两个大小不同的圆状突起,大的为花序原基,小的为小花原基。但到发育早期外形已出现区别,两性花雄蕊原基分化为柱形结构(图版Ⅰ:2),而雌化雄蕊花雌化雄蕊原基分化为叶状结构(图版Ⅱ:2)。同一环境条件下,表型是由基因型决定的,即二者早期形态的不同是由花序原基分化阶段产生不同的基因型所导致的。发育中期雌化雄蕊花与两性花的形态区别更明显,两性花柱形结构发育成雄蕊,而雌化雄蕊花叶状结构发育成雌化雄蕊(图版Ⅱ:3,4,5)。雌化雄蕊形状与雌蕊相似而体积略小,没有花丝和花药的分化,中部膨大,顶端宽而呈柱头状的突起;图版Ⅱ:6表明,雌化雄蕊形态已分化完成,都有各自的柱头、花柱和子房,环绕于雌蕊。雌蕊略高于雌化雄蕊,前者子房高大而花柱短粗,后者子房矮小而花柱细长,显然前者在生

长中处于优势。以至于到成熟期,雌蕊的体积约为雌化雄蕊的两倍,二者大小差异明显(图版Ⅱ:7,8),由于内外相互挤推,中央雌蕊形状不规则,子房由圆形变为扁形,外围雌化雄蕊也向外倾斜,子房依然是圆形,腹缝线明显,腹沟深(图版Ⅱ:9);5枚雌化雄蕊大小各不相同,可能是由于分化的早晚或对营养的竞争能力不同造成的。将雌蕊和雌化的雄蕊子房解剖后观察,前者子房内有一个小的胚珠(图版Ⅱ:10),而后者子房内仅是一个空腔(图版Ⅱ:11)。目前在空心莲子草雄蕊雌化现象中绝大部分雌化雄蕊的形态与雌蕊的相似,但也存在一些雌化雄蕊渐进雌化的过渡类型(图版Ⅱ:12)。在外形上,空心莲子草两性花的花瓣要长于雌化雄蕊花的花瓣,雌化雄蕊花的花瓣由于5枚雌化雄蕊体积的缘故,其张开角度要大于两性花类型的花瓣的张开角度。

2.3 空心莲子草花药和雌化雄蕊的结构发育过程

2.3.1 空心莲子草花药结构发育过程 空心莲子草雄蕊的发育,是在花原基分化出雄蕊原基突起之后,经顶端生长和原基上部有限的边缘生长,原基迅速伸长,上部逐渐增粗,不久即分化出花丝和花药两部分。花药在发育的初期阶段,外围为一层表皮细胞,内侧为形态相同的基本分生组织,不久在花药两个角隅处表皮内层各发育出一个孢原细胞,孢原细胞经平周分裂形成内外两层细胞,外层为初生周缘细胞,内层为初生造孢细胞。经不断分裂,初生周缘细胞自外向内依次分化为由表皮、药室内壁、中层和绒毡层,即花粉囊壁;囊内的初生造孢细胞分裂形成花粉母细胞(图版Ⅲ:2)。随着花粉母细胞不断生长,其细胞和核体积增大,细胞质变稠,以后就进入了减数分裂时期。经二次减数分裂(图版Ⅲ:3,4,5),最终形成四分体(图版Ⅲ:6)。四分体有左右对称型的,也有四面体型的,在胼胝质的作用下彼此分离,形成单核花粉粒(图版Ⅲ:7)。单核花粉粒经分裂形成2-核花粉粒(图版Ⅲ:8),即大的为营养核,小的为生殖核;此期开始出现花粉败育现象,将经FAA固定后的花粉用醋酸洋红染色观察其外部形态,发现其细胞壁和细胞质有解体、透明的败育现象(图版Ⅲ:12)。生殖核经有丝分裂形成2精子,即为3-核花粉粒,成熟花粉粒的精子呈楔形(图版Ⅲ:9)。在成熟后期的花粉粒未观察到细胞核(图版Ⅲ:10)。

2.3.2 空心莲子草雌化雄蕊的结构发育过程 空心莲子草雌化雄蕊的发育,是花原基分化出雌化雄蕊原基突起之后(图版Ⅳ:4,5),雌化雄蕊原基不断分

裂,顶端呈圆锥形,并渐趋增宽,在其周围分别分化出5个雌化雄蕊原基和5个无药雄蕊原基。无药雄蕊原基在雌化雄蕊原基的外轮,共二轮。而两性花雄蕊分化的是5个聚药雄蕊原基和5个无药雄蕊原基,二者是相间而生自成一轮。雌化雄蕊原基进一步发育(图版Ⅳ:6),其外部形态为叶状结构(图版Ⅱ:2),而此时雌蕊原基也已分化出很明显的中央心皮组织;随着中央心皮的生长,其胚珠原基也在渐渐分化出珠柄和外珠被原基(图版Ⅳ:7),雌化雄蕊也慢慢长高长大,其外部形态如图版Ⅱ:3-4;当中央心皮愈合时,胚珠原基分化出珠柄、外珠被和内珠被(图版Ⅳ:8),此时雌化雄蕊的“心皮”也已愈合,但其“心皮”内无胚珠的发育,仅是一个空腔(图版Ⅳ:8-11),当中央心皮愈合形成柱头、花柱和子房后,雌化的雄蕊也愈合形成柱头、花柱和空的子房。

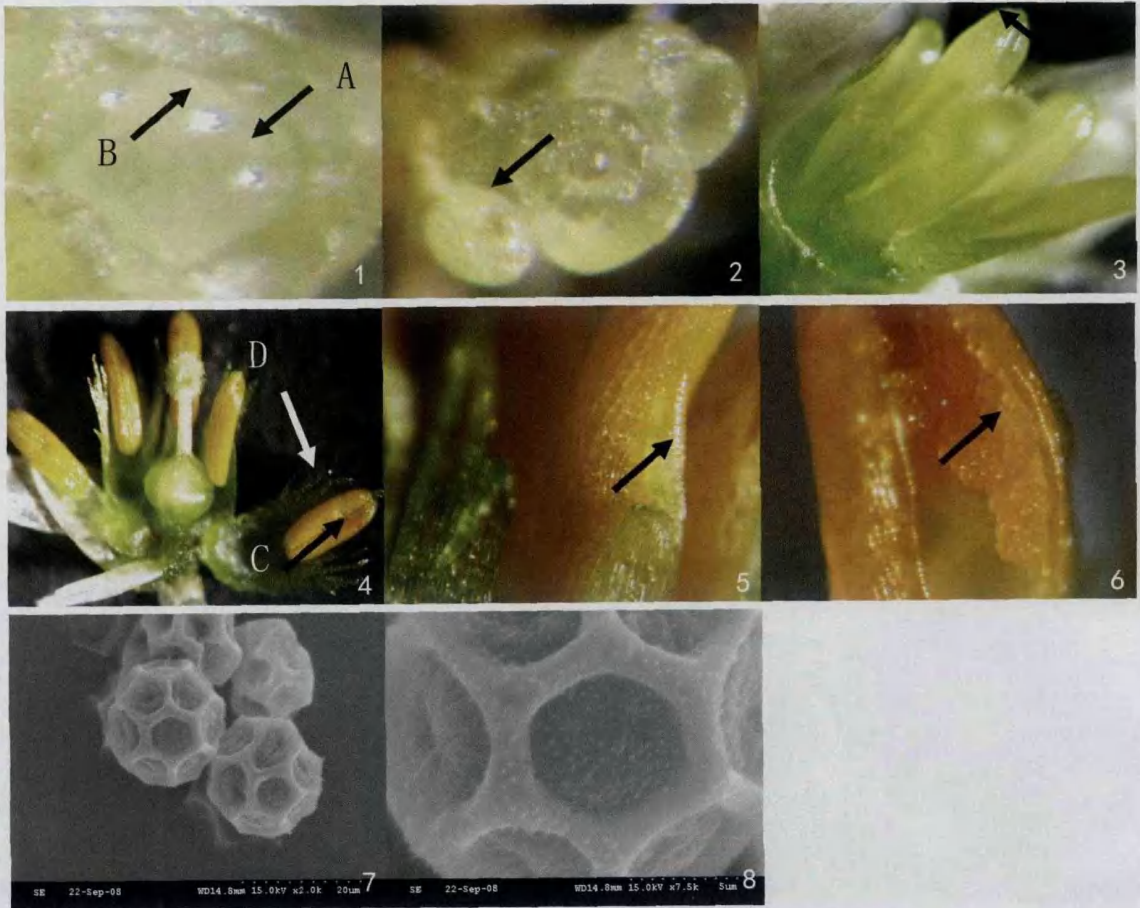
2.4 空心莲子草两性花花粉的生活力

联苯胺染色法,基本原理是根据花粉中过氧化物酶的活性来判断花粉的生活力,该方法主要是由于有活力的花粉含有活跃的过氧化物酶,所用试剂能与该酶发生氧化而染色。但是随着花粉生活力的丧失,该酶活性不消失,所以仍能染色。因此,测定值偏高(张子学等,2002),但如图版Ⅲ:11所示,花粉粒的颜色不是红色,而是黄色;经统计,其可染数为0,即空心莲子草花粉粒无生活力。

3 讨论

3.1 空心莲子草花特性与繁殖方式的关系

空心莲子草两性花和雄蕊雌化花发育成熟后,两性花的花粉在结构上无核,经活力测定花粉失去活力;雌化雄蕊有柱头、花柱和子房,但子房室内无胚珠状结构,仅为一个空腔;经过大量的切片观察还发现,空心莲子草两种类型花的雌蕊胚珠原基发育成珠柄、外珠被和内珠被后,并没有出现胚囊母细胞及其以后的发育,故推测空心莲子草胚珠发育成种子的机率很小,野外调查中也未发现种子。仅张秀艳等(2004)对空心莲子草的结实做了报道,结实率为6.5%,但是未对种子的形态结构和发芽率做相应的报道。在国内外也未见空心莲子草有关结实的报道(徐汝梅等,2003;中国植物志编辑委员会,1979;Center & Balciunas,1975)。所以空心莲子草主要是以强大的无性繁殖进行繁衍。其有性繁殖存在的意义和必要性还有待于进一步探索。



图版 I 两性花的形态发生过程 1.两性花花序原基(A)和花原基(B); 2.发育早期的雄蕊; 3.发育中期的雄蕊; 4.成熟期的雄蕊(C)和无药雄蕊(D); 5.雄蕊花药背着式; 6-8.成熟的花粉(1-3×50,4×6.5,5×40,6×34,1-6为体视显微镜观察拍摄;7×2000,8×7500,7-8为电镜下观察拍摄)。

Plate I Morphogenesis process of bisexual flower 1. Flower primordium (B) and inflorescence primordium (A) of bisexual flower; 2. Early development of stamen; 3. Metaphase development of stamen; 4. Maturity development of stamen (C) and staminodium (D); 5. dorsifixed anther; 6-8. Mature pollens(1-3×50,4×6.5,5×40,6×34,1-6 take photo by using stereomicroscope; 7×2000,8×7500, 7-8 were photoed by scanning electron microscope)

3.2 空心莲子草花雄蕊雌化原因探索

空心莲子草雌化雄蕊外形与正常雌蕊相似,但子房内为一空腔,这正好与“具尾状山羊草细胞质的硬粒小麦异质系,在正常条件下所有雄蕊都发生雌化,雌化雄蕊内没有胚珠而仅为一空洞”的结果相吻合(Koji & Koichiro,1993;刘曙东译,1994),后者的雄蕊雌化是由异源细胞质所致。Coen & Meyerowitz(1991)通过研究大量花器官突变体后认为,花器官发育中 A、B、C 三类同源异型基因(绝大多数为 MADS 盒基因),分别单独或组合决定花萼、花瓣、雄蕊和雌蕊四轮器官的形成,即 A 类基因单独决定形成萼片、A 和 B 共同决定形成花瓣、B 和 C 共同决定形成雄蕊、C 类单独作用形成心皮。当这些基

因突变时,就会发生同源异型突变,即在一个正常器官位置产生另一类器官替代的突变。在金鱼草中,deficiens A 突变(B 功能基因缺失)可以通过使原来着生雄蕊的部位产生心皮而使两性花转变为雌花(寿森炎等,2000)。不结球白菜雄蕊心皮化雄性不育系 HGMS 和 HGMSII 均是由于花器官发育 B 组基因中 *Ap3* 基因功能缺失引起的(张彦锋等,2010)。在 ABC 模型中如果决定每轮器官的其中一个基因失去活性,则由另一个基因决定器官特征(孟征等,1997),故推测,空心莲子草花雄蕊雌化现象可能是在内源因素和外界条件(例如光、温度)的影响下,控制雄蕊发育的 B 类基因失活,而控制雌蕊发育的 C 类基因扩展表达所致,需进一步验证。



图版 II 雌化雄蕊花的形态发生过程 1. 雌化雄蕊花序原基(E)和花原基(F); 2. 发育早期的雌化雄蕊; 3-5. 发育中期的雌化雄蕊; 6. 发育成熟期的雌化雄蕊; 7-8. 发育成熟后期的雌化雄蕊; 9. 雌化雄蕊的腹沟; 10. 雌蕊胚珠; 11. 空的雌化雄蕊; 12. 雌化雄蕊的过渡类型 (1-5, 10×50; 6-8×6.5; 9, 11×34; 12×6.5, 体视显微镜观察拍摄)。

Plate II Morphogenesis process of feminisation stamen 1. Flower primordium (F) and inflorescence primordium (E) of feminisation stamen; 2. Early development of feminisation stamen; 3-5. Metaphase development of feminisation stamen; 6. Maturity development of feminisation stamen; 7-8. Late development stage of feminisation stamen; 9. Furrow of feminisation stamen; 10. Ovule of pistil; 11. Empty feminisation stamen; 12. Transition type of feminisation stamen (photographed under stereomicroscope).

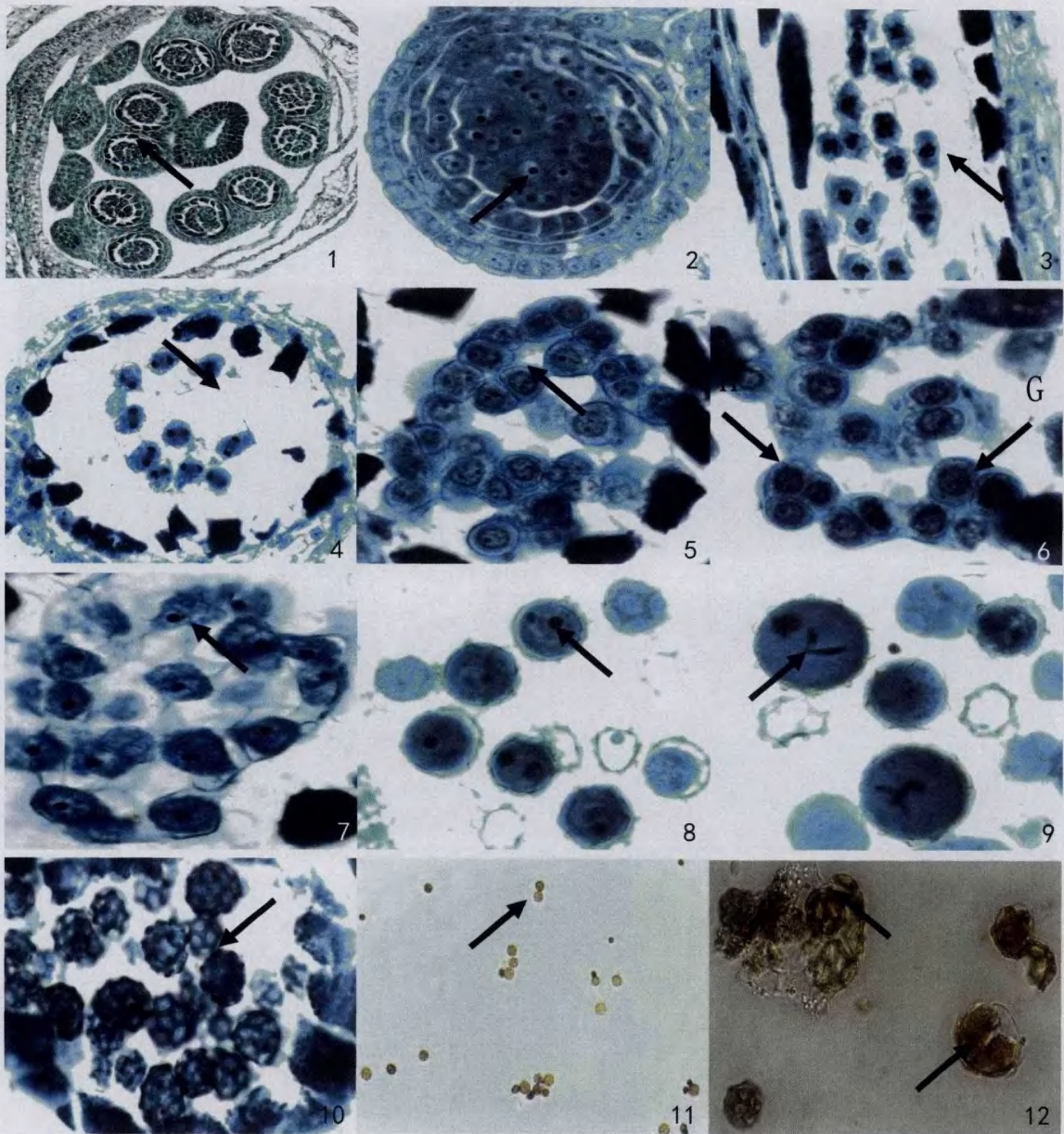
参考文献:

- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 1979. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 25(2)
- 刘曙东译. 1994. 具有山羊草细胞质小麦的光敏型胞质雄性不育系研究[J]. 麦类作物学报, 4: 7-9
- 任列花, 程三虎, 张登福. 2005. 15个早实核桃品种花粉粒形状、大小及生活力测定初报[J]. 北方园艺, 2: 56-57

徐汝梅, 叶万辉. 2003. 生物入侵: 理论与实践[M]. 北京: 科学出版社

Coen ES, Meyerowitz EM. 1991. The War of the whorls: genetic interactions controlling flower development[J]. *Nature*, 353: 31-37

Center TD, Balciunas J. 1975. The effects of water quality on the distribution of alligator weed and water hyacinth[J]. *US Army*



图版 III 花药的发育过程 1. 5枚雄蕊花药的横切面,每个花药具两个花粉囊; 2. 花粉囊壁(由外至内分别为表皮、药室内壁、中层、绒毡层)和花粉母细胞; 3. 减数分裂中期 I; 4. 减数分裂末期 II; 5. 二分体; 6. 左右对称型(G)和四面体型(H)的四分体; 7. 单核花粉粒; 8. 二核花粉粒; 9. 三核花粉粒; 10. 解体的成熟花粉粒; 11. 花粉粒显黄色; 12. 败育的花粉(荧光显微镜观察拍摄, 1×20 ; $2-10 \times 60$; 11×10 ; 12×40)。

Plate III Development process of anther 1. Transverse section of five anther, each anther has 2 pollen sac; 2. Pollen sac wall (epidermis, endothecium, middle layer and tapetum) and pollen mother cell; 3. Meiotic metaphase I; 4. Meiotic telophase II; 5. Dyad; 6. Bilateral symmetry (G) and tetrahedral (H) tetrad; 7. Mononuclear pollen; 8. Two-cells pollen; 9. Three-cells pollen; 10. Disintegration of mature pollen; 11. Yellow pollen; 12. Abortive pollen (photographed under fluorescence microscope, 1×20 ; $2-10 \times 60$; 11×10 ; 12×40).

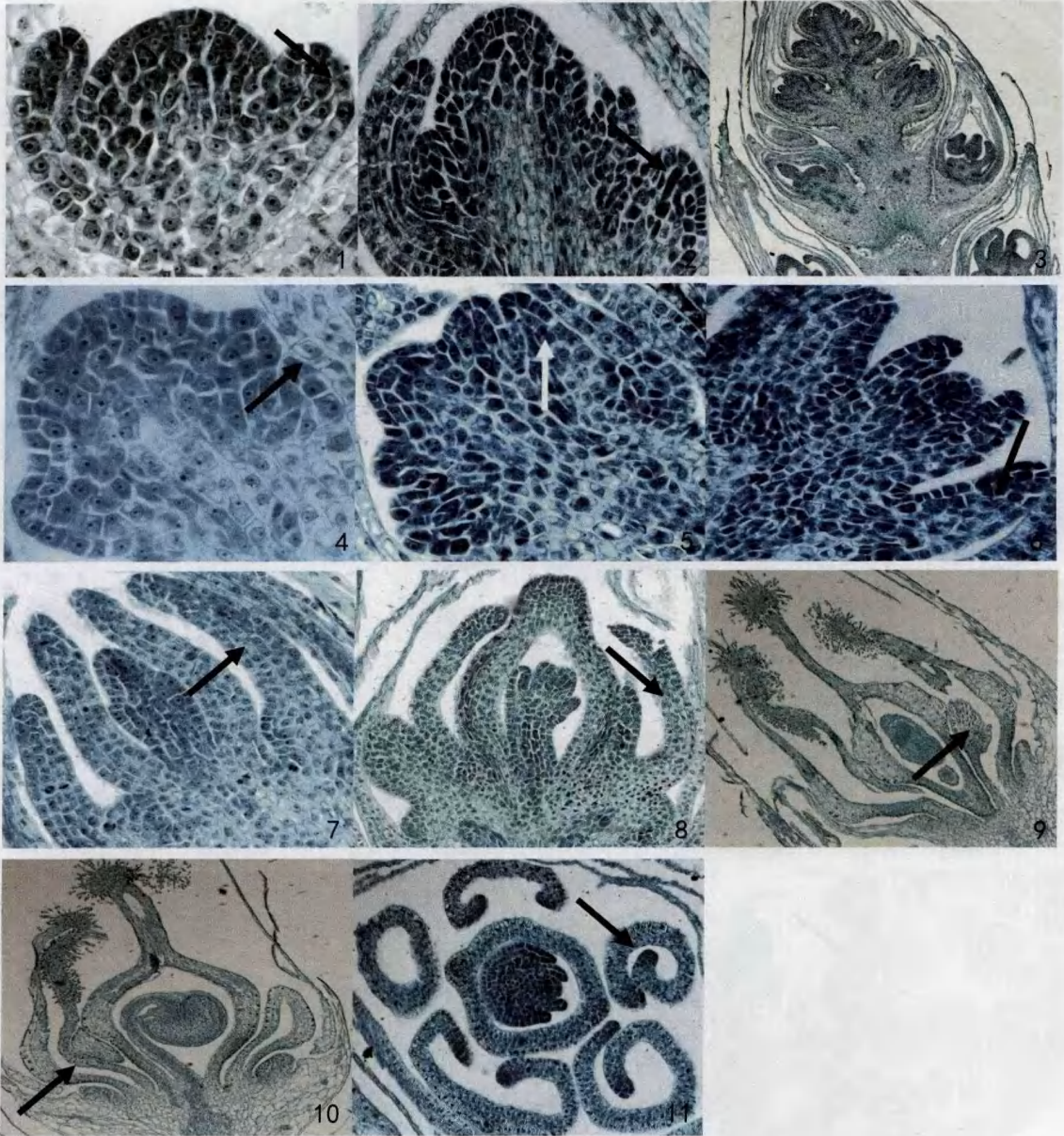
Eng waterways Exp S T R, **10**: 3-13

Chen Z (陈倬). 1964. Feminization of stamens of *Altemanthera philoxeroides* Grisebich (空心苋雄蕊雌化的现象) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **12**(2): 133-137

Koji Murai, Koichiro Tsunewaki. 1993. Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat with *Aegilops crassa* cytoplasm [J]. *Euphytica*, **67**: 41-48

Lou YL (娄远来), Wang QY (王庆亚), Deng YY (邓渊钰) 等. 2004. The developmental anatomical study on anomalous in the root and adventitious buds of *Altemanthera philoxeroides* (空心莲子草根中异常结构及不定芽的发育解剖学研究) [J]. *Guihaia* (广西植物), **24**(2): 125-127

Madhusodanan PV, Kumar KGA. 1993. *Altemanthera philoxeroides* - 'Alligator weed' - a fast spreading weed in Kerala, south



图版 IV 花序及雌化雄蕊的解剖结构 1-3. 花序的形成; 4,5. 雌化雄蕊原基突起的形成; 6-8. 雌化雄蕊的形成; 9-10. 分化成熟的雌化雄蕊; 11. 雌化小花横切(荧光显微镜观察拍摄, 3,9,10×5; 8,11×20; 2,5,6,7×40; 1,4×60)。

Plate IV Anatomical structure of inflorescence and feminisation stamen 1-3. Inflorescence formation; 4-5. Primordium process formation of feminisation stamen; 6-8. Feminisation stamen formation; 9-10. Mature feminisation stamen; 11. Transverse section of feminisation flower (photographed under fluorescence microscope, 3,9,10×5; 8,11×20; 2,5,6,7×40; 1,4×60)

India[J]. *J Economic Taxonomic Bot*, **17**(3):651-654

Meng ZK(孟征), Xu ZH(许智宏). 1997. The homeotic genes in higher plants(高等植物的同源异型基因)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **33**(3):233-239

Shou SY(寿森炎), Wang QM(汪俏梅). 2000. Progress of study on sex differentiation in higher plants(高等植物性别分化研究进展)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **17**(6):528-535

Zhang XY(张秀艳), Ye YZ(叶永忠), Zhang XP(张小平), et al. 2004. The reproductive and invasive characteristics of *Altenanthera philoxeroides*(空心莲子草的生殖及入侵特性)[J].

Henan Sci(河南科学), **22**(1):60-62

Zhang YF(张彦锋), Wang XF(王学芳), Zhang X(张新), et al. 2010. Characters of stamen carpelloid male sterile line HGMS II of non-heading Chinese cabbage(不结球白菜雄蕊心皮化雄性不育系 HGMSII 特性研究). *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **30**(10):1946-1951

Zhang ZX(张子学), Sun F(孙峰). 2002. The selection of the best testing method on the pollen viability in hot pepper(辣椒花粉生活力最佳测定方法的筛选)[J]. *Seed*(种子), **120**(1):32-33