

巨峰葡萄(*Vitis labruscana* Kyoho)闭花受精机理的研究

白惠磊 张素丽 梁庆沙 胡建芳

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100094)

摘要 为研究葡萄闭花受精机理,利用石蜡切片观察了巨峰葡萄雌雄配子体发育的相关性、花粉萌发、人工授粉结实等,结果表明:雌配子体开始发育略晚于雄配子体,雌雄配子体分别在开花前4~5和2~3日完成结构发育。花粉在开花前5日已有少量萌发,开花前3日到开花日花粉萌发率和花前人工授粉率分别为14.8%和22.7%,呈逐渐上升的趋势,开花前2、3日进行人工授粉雌蕊坐果率分别为3.2%和4.59%,说明雌雄配子体在结构和生理功能上已发育成熟,为闭花受精提供了条件。利用水溶性胶人为闭花授粉条件下胚囊发育正常,并能完成受精,同时在花柱、子房和珠孔萌发的花粉管数、座果率与开花授粉条件没有差异,显示巨峰葡萄主要为花前闭花受精类型,在不适宜开花的环境条件下也可发生假闭花受精。闭花受精可能并不是导致坐果率低的主要原因,而与自身发育结构有关,同时也是为适应外界环境条件所表现的一种发育对策。

关键词 巨峰葡萄;闭花受精;雌雄配子体;花粉管生长;胚囊;坐果

中图分类号 S 662.1

文章编号 1007-4333(2007)02-0027-07

文献标识码 A

Mechanism of cleistogamy in 'Kyoho' grape (*Vitis labruscana*)

Bai Huilei, Zhang Suli, Liang Qingsha, Hu Jianfang

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract In order to understanding the mechanism of cleistogamy of 'Kyoho' grapevine, we observed the relation of female gametophyte development with that of male, rate of pollen germination and rate of fruit set by the hand-pollination in pre-anthesis, pollen-tube growth in the pistil and fruit set during cleistogamy. The results showed that female gametophyte developed more slowly than male gametophyte. However, both finished their development at 4 and 2 days respectively before blooming. It was also found that a few pollen germinated at 5 days before anthesis and then increased. The germinating rate of pollen was 14.8% at 3 days before anthesis, but increased to 22.7% at anthesis. The low rates of fruiting due to hand-pollination, 3.2% and 4.59% at 2 and 3 days respectively before anthesis, indicated that both pollen and pistil developed well in either structure or physiology, which made it possible for cleistogamy. Under the condition of populated cleistogamy, embryo sac structure could develop well. There was little difference in the numbers of pollen tube, style, ovary, micropyle in pistil and fruit set by clistogamy and natural pollination. It was thus suggested that 'Kyoho' grapevine belonged to preanthesis cleistogamy. Pseudocleistogamy might occur at the condition which was not suitable for flowering. Pseudocleistogamy might not be the main reasons for low fruiting rate. The structure development and physiological natures of both female and male gametophytes could be related to the low fruiting rate, which might be the strategy for them to adapt environmental conditions as well.

Key words Kyoho grapevine; cleistogamy; female and male gametophytes; pollen-tube growth; embryo sac; fruit set

闭花传粉是在闭花授粉条件下完成受精的现象,是一种完全自交的繁殖方式。闭花受精植物可

以降低外源基因的侵入,保持自身基因的纯合^[1]。对紫花地丁的研究表明,闭锁花的结实率显著高于

收稿日期:2006-07-17

基金项目:北京市科委重大项目(D0706002000091)

作者简介:白惠磊,硕士研究生;胡建芳,副教授,主要从事果树生物学及果实发育分子生物学方面的研究,E-mail: hujf@cau.edu.cn

开放花^[2],一些闭花受精植物如闭颖水稻、棉花等^[3-4]可以在低温多雨环境中进行正常授粉受精,扩大对不良环境的适应性^[5]。目前对闭花受精的研究大多在生物学性状观察^[3-4,6]、适应性^[5,7]以及花器官比较^[7-8]等方面,研究的种类也主要集中在水稻^[5-8]、棉花^[4]等少数植物,对园艺植物研究的还很少,对闭花受精发生的类型以及形成的机制还缺乏系统的了解^[9-11]。

大多数葡萄品种为闭花受精,这对葡萄进行人工杂交极为不利^[12],有学者认为葡萄闭花受精与落花落果有关,即容易闭花受精的品种落花落果也较严重^[13],但目前对多数葡萄品种闭花受精发生程度与落花落果是否存在着联系还缺乏证据^[10],对葡萄闭花受精发生类型和形成的机制也缺乏了解^[12-13]。本研究通过对巨峰葡萄雌雄配子体发育的相关性、花粉萌芽率与蕾期人工授粉结实率,以及闭花传粉条件下花粉管在雌蕊中的伸长、受精和坐果进行研究,以期明确巨峰葡萄闭花传粉和闭花受精发生与花器官发育之间的关系以及闭花受精发生类型和可能形成的机理。

1 材料与与方法

1.1 材料

试验于2002—2004年在中国农业大学果树实验园和东北旺试验农场进行,材料选自8~10年生发育良好的巨峰葡萄。

1.2 方法

1.2.1 雌雄配子体发育相关性观察 2002—2003年在巨峰葡萄花序形成时每隔3~5d进行采样,至开花期为止。样品采用FAA固定,乙醇系列脱水,制备常规石蜡切片,铁矾-苏木精染色,显微观察。

1.2.2 不同发育时期花粉生活力和萌发力测定 2003年从中国农业大学果树实验园在开花前约6d起(单核花粉期)每天上午8~10时采集花穗,取出花药,自然干燥,收集花粉进行醋酸洋红染色测定花粉生活力并进行花粉发芽实验(培养基成分:20g/100mL蔗糖,0.8g/100mL琼脂,25光照培养箱中培养2h)。

1.2.3 蕾期传粉与人工授粉不同发育阶段雌蕊坐果的调查 2002年从东北旺试验农场选择发育良好的花前5~6d花蕾花序60穗做好标记,其中50穗去雄并及时套袋,于开花前4d起每天任意选择10穗进行人工授粉(花粉为同一品种提前采集)至

开花日为止。剩余10穗于开花前4d起每天采集50个柱头,制徒手切片苯胺蓝染色,Olympus荧光显微镜下观察散落在柱头的花粉管数。

1.2.4 闭花受精处理 2004年从中国农业大学果树实验园在开花前3d用普通水溶性胶处理15穗花序,使其形成闭花状态,并每天2次(上午、下午)观察花蕾发育状况,及时除去萎蔫、变色花蕾,从中选取5穗于开花后1、2d分别取样,固定,制石蜡切片,部分苯胺蓝染色,荧光显微镜下观察花粉管在花柱(上部、中部、下部)、子房(上部、中部、下部)及珠孔的伸长情况(观察数量30张切片);部分进行铁矾-苏木精染色,观察双受精过程。其余10穗记载花蕾数并于坐果后2周调查坐果率,自然授粉设为对照。

2 结果与分析

2.1 雌雄配子体发育的相关性

巨峰葡萄雌雄配子体发育在时间上的对应关系,观察结果见表1和图1-1~22。

表1 巨峰葡萄大、小孢子和雌雄配子体发育在时间上的对应关系(2002年)

Table 1 Relation of the development of male and female gametophytes with microsporogenesis and megasporogenesis in Kyoho grapevine (in 2002)

发育时期	雄配子体发育阶段	雌配子体发育阶段
04-26	孢原组织	未分化
05-02	造孢细胞	胚珠原基 孢原组织
05-07	小孢子母细胞	初生造孢细胞
05-12	小孢子母细胞减数分裂	次生造孢细胞
05-14	小孢子4分体	大孢子母细胞
05-17	单核小孢子	大孢子母细胞减数分裂
05-19	2-细胞花粉	功能大孢子 2-核胚囊 4-核胚囊
05-21		8-核胚囊
05-23		成熟胚囊

注:05-23为开花日。

葡萄花性器官发育是在当年形成并完成的,雄蕊发育早于雌蕊,当花蕾出现时,雄蕊的孢原组织已经形成,此时雌蕊还未分化(图1-1箭头所示),随后

雄蕊很快分化形成初生造孢细胞(图 1-2);当雌蕊的胚珠原基开始出现时,雄蕊形成了次生造孢细胞(图 1-3 箭头所示),次生造孢细胞体积大而细胞质浓,细胞壁结构清晰(图 1-4);由次生造孢细胞进一步发育形成小孢子母细胞,此时雌配子体开始形成孢原细胞(图 1-5 箭头所示),小孢子母细胞大而细胞核明显,绒毡层细胞发达(图 1-6),雌蕊的孢原细胞位于胚珠原基表皮下的第一层细胞,细胞较大,胚珠开始倒生(图 1-7);小孢子母细胞减数分裂时,对应的是雌蕊造孢细胞的形成与发育,当小孢子四分体形成时,雌蕊开始形成大孢子母细胞(图 1-8 箭头所示),小孢子四分体被胼胝质包裹呈四面体形(图 1-9),大孢子母细胞体积大液泡化程度较高(图 1-10);小孢子四分体解体后形成单核花粉,此时大孢子母细胞正处于减数分裂中(图 1-11 箭头所示),单核花粉在显微镜下呈透亮多边形(图 1-12),大孢子母细胞减数分裂时染色体呈梭状,随后分裂成二分

体和直线排列的四分体(图 1-13 ~ 15);2-核花粉期对应的是功能大孢子形成(图 1-16),此后花粉进入成熟发育阶段,雌配子体开始进行胚囊分化,在开花前 2 日形成 8-核胚囊(图 1-17 箭头所示和图 1-18 ~ 22)。8-核胚囊中位于合点端的 3 个反足细胞形成后不久即退化,2 个极核融合成次生核,位于珠孔端的 3 个细胞分别是卵细胞和 2 个助细胞,呈“品”字型排列(图 1-21、22)。

2.2 花粉萌芽率与人工授粉结实率

对开花前不同发育时期的花粉进行生活力测定结果显示:花粉粒直径在开花 5、6 d 前略小,从开花 4 d 前到开花日变化不大。花粉染色率除了花前 6 d 稍低外,其余都变化不大。花粉萌芽率在花前 5、4 d 分别为 1.3% 和 5.2%,花前 3 d 到开花日花粉萌芽率由 14.8% 上升到 22.7%(表 2),花粉萌芽时测定的花粉管长度,在花前 4d 时较短,开花日时较长(图 2-23、24;表 2)。

表 2 不同发育时期巨峰葡萄的花粉发芽率

Table 2 Viability and germination of pollen grain at different developing stages of Kyoho grapevine

开花前天数/d	花粉粒直径/ μm	花粉染色率/%	花粉发芽率/%	花粉管长度/ μm
6	0.29 \pm 0.04	87.6 \pm 9.10	0 \pm 0	0 \pm 0
5	0.28 \pm 0.06	91.0 \pm 4.37	1.3 \pm 2.2	3.8 \pm 3.10
4	0.31 \pm 0.10	90.8 \pm 10.30	5.2 \pm 3.2	9.6 \pm 1.29
3	0.30 \pm 0.03	90.6 \pm 8.70	14.8 \pm 5.3	38.1 \pm 15.10
2	0.31 \pm 0.07	91.5 \pm 5.82	15.0 \pm 4.5	52.3 \pm 21.20
1	0.32 \pm 0.05	94.0 \pm 4.18	22.5 \pm 5.6	95.6 \pm 19.40
0	0.30 \pm 0.04	94.7 \pm 7.25	22.7 \pm 4.4	83.7 \pm 28.70

注:花粉粒直径统计数量为 30 粒,花粉染色率、萌芽率每次观察 5 个视野(每个视野不少于 30 粒花粉),重复 3 次。花粉管长度统计为每个视野中已萌发的花粉管数。数据为平均值 \pm 标准差,下同。

花前 4、3 d 蕾期的柱头上没有观察到散落的花粉,花前 2 d 有 6% 的柱头上开始出现花粉,但没有萌发的花粉。开花前 1 d 和开花日观察柱头上有花粉散落的比率分别为 36.7% 和 55.2%,同时花粉萌

发的比率为 9.2% 和 18.3%。人工授粉在花前 4 d 坐果率为 0,花前 3、2 d 坐果率分别为 3.2%、4.59%,但在花前 1 d 授粉和开花日授粉坐果率则为 9.95% 和 12.8%(表 3)。

表 3 不同发育时期巨峰葡萄的蕾期传粉与人工授粉坐果率

Table 3 Fruiting rates set by pollination and preanthesis cleistogamy at different growing stages in Kyoho grapevine

开花前天数/d	蕾期传粉		人工授粉结实		
	蕾期传粉率/%	花粉在柱头上的萌发率/%	花蕾数	坐果数	坐果率/%
4	0	0	88.2 \pm 23.5	0	0
3	0	0	67.3 \pm 17.8	2.2 \pm 0.9	3.20 \pm 1.89
2	6.0 \pm 3.9	0	81.6 \pm 16.2	3.8 \pm 1.2	4.59 \pm 1.67
1	36.7 \pm 12.8	9.2 \pm 4.7	78.6 \pm 20.9	7.9 \pm 1.7	9.95 \pm 4.31
0	55.2 \pm 9.7	18.3 \pm 11.2	65.4 \pm 24.6	8.5 \pm 0.8	12.8 \pm 4.77

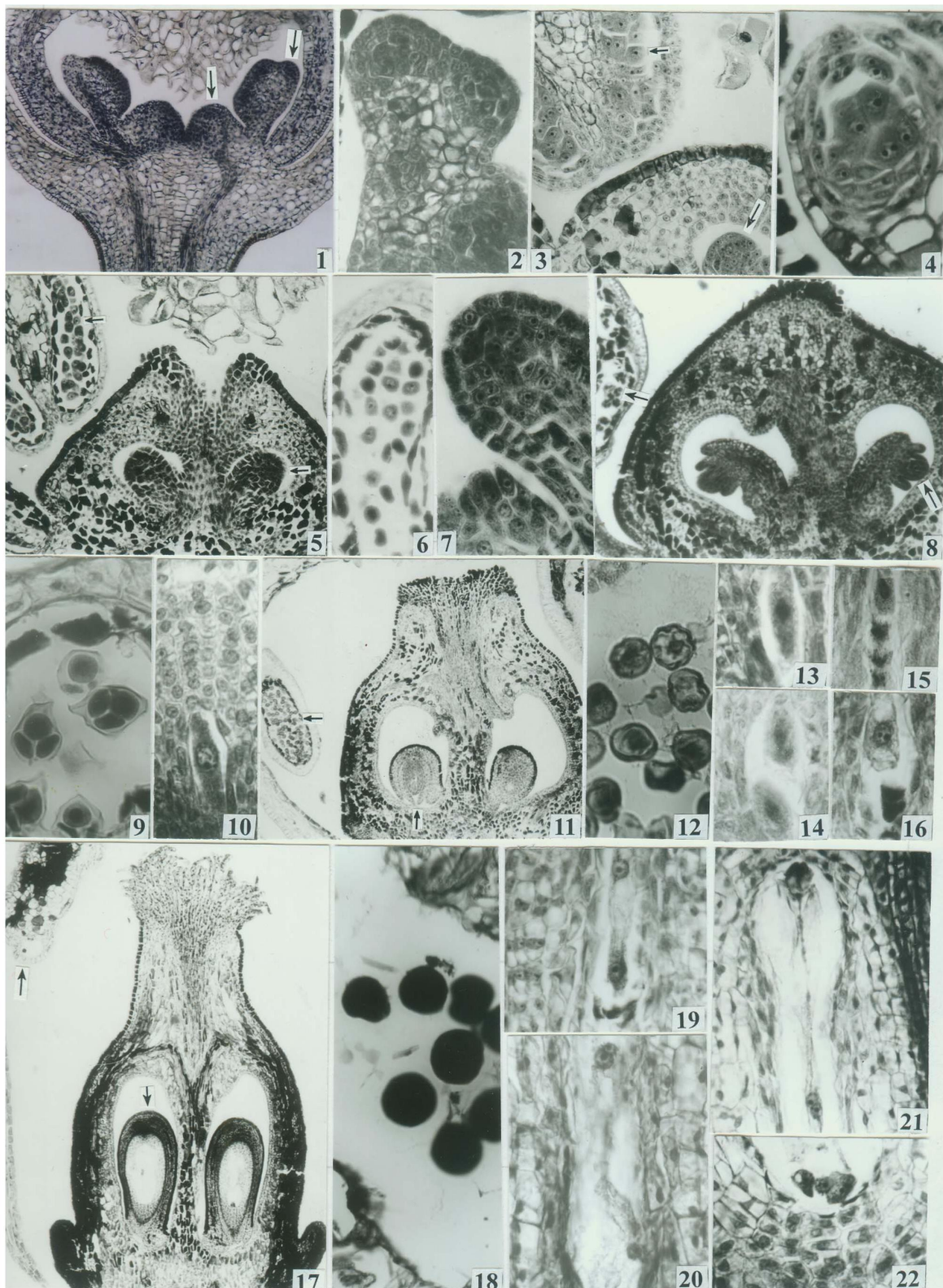


图1 巨峰葡萄雌雄配子体发育的相关性

Fig. 1 Correlation of the development of male and female gametophytes in Kyoho grapevine

1. 发育初期雄蕊与雌蕊的分化 ($\times 33$); 2. 小孢子囊中的造孢细胞 ($\times 132$); 3. 胚珠原基与小孢子母细胞 ($\times 66$); 4. 小孢子 ($\times 132$); 5. 小孢子与孢原细胞 ($\times 66$); 6. 小孢子母细胞结构 ($\times 132$); 7. 孢原细胞 ($\times 132$); 8. 小孢子四分体与大孢子母细胞形成 ($\times 33$); 9. 小孢子四分体结构 ($\times 132$); 10. 大孢子母细胞结构 ($\times 132$); 11. 单核花粉与大孢子母细胞减数分裂 ($\times 13.2$); 12. 单核花粉 ($\times 132$); 13~15. 大孢子母细胞减数分裂过程 ($\times 132$); 16. 功能大孢子 ($\times 132$); 17. 成熟花粉与胚囊 ($\times 13.2$); 18. 成熟花粉结构 ($\times 132$); 19~22. 示意 2~8 核胚囊 ($\times 132$)

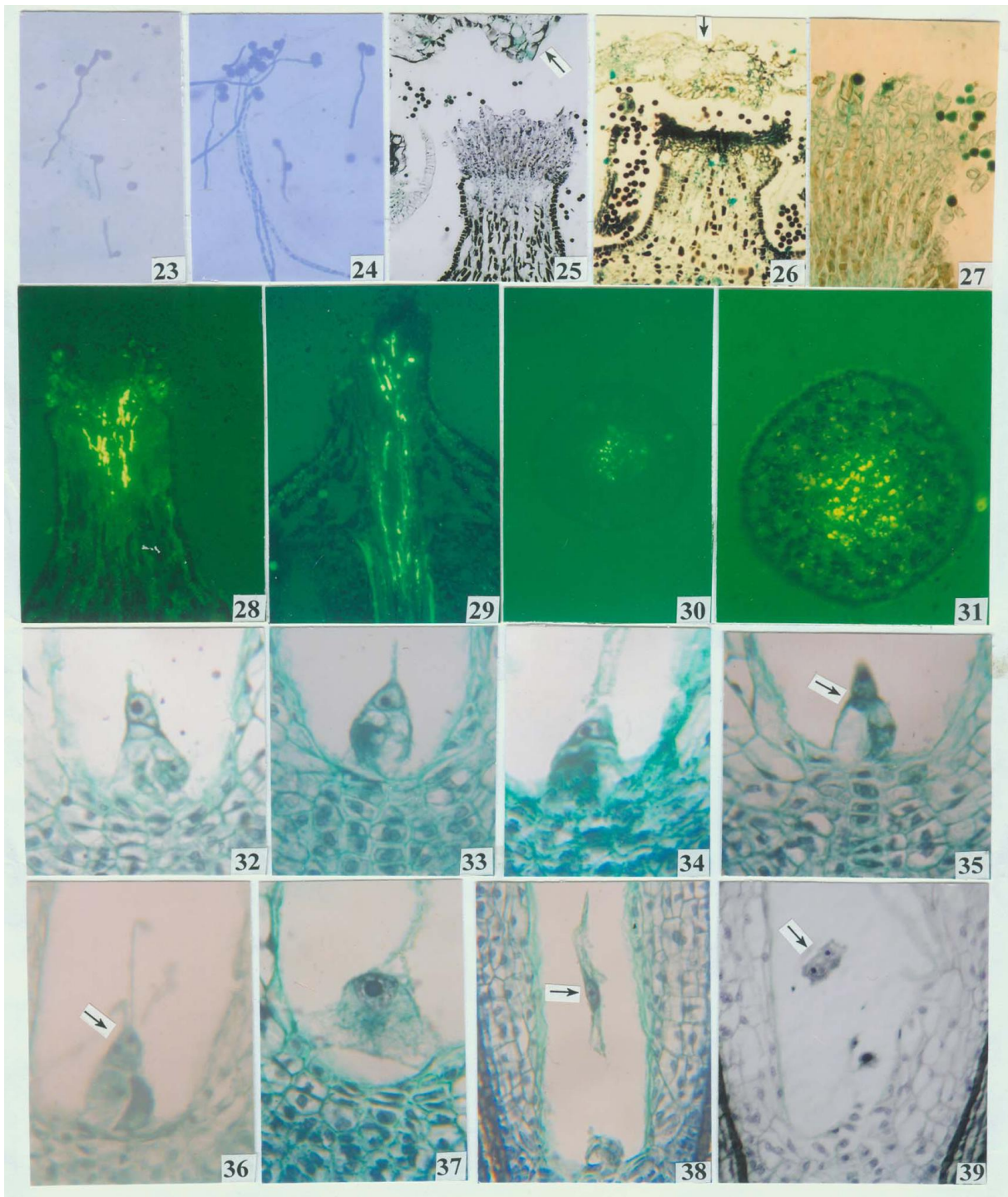


图 2 巨峰葡萄花粉发芽、闭花传粉、花粉管伸长以及闭花受精过程的研究

Fig. 2 Showing the pollen germination, preanthesis cleistogamy, pollen tubes growth in ovaries and cleistogamy in 'Kyoho' grapevine

23. 花前 4 日萌发的花粉管 ($\times 13.2$); 24. 开花当日萌发的花粉管 ($\times 13.2$); 25. 自然生长状态下的蕾期传粉 ($\times 13.2$); 26. 人为处理后的闭花传粉 ($\times 13.2$); 27. 花粉散落在乳头细胞上 ($\times 33$); 28、30. 闭花受精状态下雌蕊中花粉管的伸长(纵切、横切) ($\times 33$); 29、31. 开花受精状态下雌蕊中花粉管的伸长(纵切、横切) ($\times 33$); 32. 闭花受精过程中的卵结构 ($\times 132$); 33、34. 精细胞从一侧组细胞进入 ($\times 132$); 35、36. 精卵细胞开始融合 ($\times 132$); 37. 受精后的合子 ($\times 132$); 38. 闭花受精后的初生胚乳核 ($\times 66$); 39. 初生胚乳开始分裂 ($\times 66$)

2.3 闭花传粉条件下子房中花粉管的伸长、受精与坐果

在自然生长状态下部分花蕾可发生闭花传粉现象(图 2-25),人为涂胶处理后可发生闭花传粉(图 2-26),两者在花器官发育和闭花传粉方面没有差异。花粉散落在柱头的乳头细胞间(图 2-27)。

闭花传粉后花粉能够在柱头上萌发,并且花粉管能在雌蕊中正常生长(图 2-28),与自然授粉状态下的花粉管伸长没有显著差异(图 2-29),但花柱中部的花粉管数目略少于对照(图 2-30、31)。另外,

闭花传粉与自然授粉状态下的雌蕊及胚囊发育没有差异(图未显示)。

对闭花传粉和自然授粉状态下花后 1 和 2 d 花粉管在花柱(上部、中部、下部)、子房(上部、中部、下部)以及珠孔的伸长状况进行调查(表 4)。结果表明,花后 1 d 闭花传粉与自然授粉都没有观察到花粉管到达珠孔,只有少数花粉管达到子房下部,同时与花后 2 d 相比雌蕊各部位的花粉管数要少。花后 2 d 已有部分花粉管到达了珠孔,闭花传粉比自然授粉花粉管数要少,但两者在同一部位之间没有明显差异。

表 4 闭花传粉和自然授粉状态下巨峰葡萄雌蕊中花粉管的伸长

Table 4 Number of pollen tubes reaching each part of styles and ovaries of florets in cleistogamy and self pollination of Kyohe grapevine

雌蕊	部位	开花后时间/h			
		24		48	
		闭花传粉	自然授粉	闭花传粉	自然授粉
花柱	上部	10.82 ±0.82	11.33 ±1.70	16.33 ±2.26	18.73 ±2.35
	中部	7.67 ±0.94	6.02 ±0.82	14.33 ±3.30	16.03 ±1.76
	下部	5.04 ±0.82	4.5 ±0.69	7.67 ±1.24	10.76 ±1.24
子房	上部	3.35 ±0.41	2.67 ±0.47	5.20 ±2.11	7.22 ±1.38
	中部	1.56 ±0.33	1.47 ±0.94	3.26 ±1.81	5.20 ±1.17
	下部	0.45 ±0.23	0.64 ±0.35	1.54 ±0.82	2.82 ±1.83
珠孔		0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.55 ±0.37	1.08 ±0.68

人为涂胶处理后在闭花传粉条件下能够完成闭花受精过程(图 2-32 ~ 39)。处理后在开花期观察到发育正常的卵细胞(图 2-32),随后精子从一侧助细胞进入胚囊(图 2-33、34),并逐渐靠近卵细胞(图 2-35 箭头所示),进入卵细胞后完成精卵细胞的结合(图 2-36 箭头所示),受精后的合子细胞核大而核仁明显(图 2-37),极核受精后在胚囊中央形成初生胚乳核(图 2-38 箭头所示),随后初生胚乳核进行分裂形成核型胚乳(图 2-39)。

对闭花传粉条件下完成的闭花受精与自然授粉状态下的开花受精坐果率进行调查,两者之间没有明显差异,坐果率分别为 33%和 38%(图 3)。

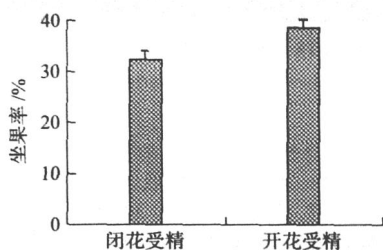


图 3 巨峰葡萄闭花受精与开花受精坐果率

Fig. 3 Fruiting rates of cleistogamy and chasmogamy. Fruit set of cleistogamy and chasmogamy for Kyohe grapevine

3 讨论

1) 植物的受精类型分为开花受精与闭花受精,被子植物在自然条件下通常具有其中 1 种或 2 种同时兼有的受精方式^[14]。闭花受精广泛存在于被子植物中,具有闭花受精特性的植物通常性器官成熟较早^[10~11,15]。从巨峰葡萄雌雄配子体发育相关性来看,雄配子体在花前 4~5 d 已发育成熟,并且花粉具有了一定的发芽率,这为闭花受精做好了准备。雌配子体发育虽然没有雄配子体成熟那样早,但也在花前 2 d 发育成熟,并且在花前 3 d 起进行人工授粉能够得到一定的结实率。这种性器官发育的早熟性为葡萄闭花传粉实现闭花受精提供了条件。另外,从花器官的排列方式来看,葡萄从性器官出现时,花丝将花药高高顶起处于雌蕊的上部(图 1-1),这种结构一直维持到开花,与多数植物闭花传粉的花丝类型相似^[16];同时葡萄花冠的脱落方式是从基部向上逐渐进行,在这一过程中紧贴于花冠的雄蕊会受到一定的压力,从而促使花药开裂实现闭花受精。从大量蕾期(花前 1~2 d)花药已开裂的现象中也可以说明这一点(图 2-25、表 3)。因此可以认为,

巨峰葡萄性器官在结构和生理方面的提前成熟和本身发育特点是导致闭花受精的主要原因。

2) Lord^[17]把植物闭花受精分为 4 种形式,即花前闭花受精 (preanthesis cleistogamy)、假闭花受精 (pseudocleistogamy)、完全闭花受精 (complete cleistogamy) 和真闭花受精 (true cleistogamy)。花前闭花受精主要是指蕾期授粉受精,假闭花受精是指开花期间花瓣不开放而完成的受精。本研究中巨峰葡萄在开花前 1 日已有约 36.7% 的花蕾柱头上散落有花粉,说明巨峰葡萄在正常情况下发生的闭花受精主要属于花前闭花受精;而在实际生产中如果葡萄花期遇到雨季,尤其是南方多雨地区可以观察到葡萄在开花期间许多小花不开放,花冠不脱落一直维持到果粒膨大,说明雨水可导致葡萄发生假闭花受精。通过花前人为沾胶处理可以使小花不开放就完成受精,这一试验正好说明巨峰葡萄可以受环境条件影响而产生假闭花受精。因此可以认为巨峰葡萄的闭花受精类型属于花前和假闭花受精。

3) 对同一种植物而言,既有开花受精同时也有闭花受精不仅可以增加受精方式,而且可以提高有性生殖的成功率^[14,18]。因为植物在不适宜授粉受精的环境条件下,要以最小的成本获得最多数量的种子达到繁衍后代的目的,通过闭花受精可以实现这一目标^[14]。本研究中在假闭花受精条件下花粉管能够在雌蕊中正常伸长,并且可以得到与开花受精的坐果率基本相同的结果,说明闭花受精并不直接影响结实,而引起闭花受精发生的不良环境才是导致结实率低的主要原因,这与以往在葡萄方面的研究有所不同^[13]。葡萄在开花期如果环境条件适宜则多数花蕾能够正常开放,进行开花受精,以便接受更多方面的花粉,提高其有性生殖成功率;但如果花期长时间遭遇阴雨或人为因素等则可通过闭花受精完成繁衍后代的目的。这种闭花受精的特性是葡萄在长期进化过程中有效抵御不良环境的一种发育策略。

参 考 文 献

- [1] 许如银, 祝丽, 黄祖六, 等. 大麦开颖性状的遗传分析[J]. 麦类作物研究, 2006, 26(2): 32-36
- [2] 刘绮丽, 刘香梅, 刘薇薇, 等. 紫花地丁开放花与闭锁花繁殖特征的研究[J]. 北京师范大学学报, 2006, 42(6): 605-609
- [3] 滕利生, 徐丽莎. 水稻闭花受精的生物学意义及遗传研究[J]. 作物学报, 1992, 3(2): 13-18
- [4] 张金发, 孙济中, 刘金兰. 棉花闭花受精的发现及意义[J]. 华中农业大学学报, 1994, 13(4): 441-448
- [5] 栗茂腾, 蔡得田, 黄利民, 等. 闭颖授粉水稻的抗逆性及其相适应性的生理特点[J]. 华中农业大学学报, 2002, 28(4): 541-545
- [6] 邓平, 朱国旗, 张玉焯, 等. 闭花受精水稻的生物学特性观察[J]. 作物研究, 2000, 1: 1-3
- [7] 栗茂腾, 蔡得田, 黄利民, 等. 开颖授粉和闭颖授粉水稻的耐湿性和花药结构比较[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(5): 407-412
- [8] 栗茂腾, 臧新, 刘建民, 等. 正常开颖授粉水稻 T168 和闭颖授粉水稻 CL01 的浆片结构比较[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(6): 564-569
- [9] Cort & Palomec A C, McCauley R A, Ballard J H E. Population genetic structure in temperate and tropical species of *viola* with a mixed breeding system[J]. Int J Plant Sci, 2006, 167(3): 503-512
- [10] Takahashi R H, Kurosaki S, Yumoto O K, et al. Genetic and linkage analysis of cleistogamy in soybean[J]. The Journal of Heredity, 2001, 92(1): 89-92
- [11] Prras R, Alvarez J M M. Breeding system in the cleistogamous species *Centaurea melitensis* (Asteraceae)[J]. Can J Bot, 1999, 77(11): 1632-1640
- [12] He Puchao, Zhang Yanlong. Studies on the gametophytic development and cleistogamy of grapes[J]. Acta Horticulturae Sinia, 1994, 21(3): 227-230
- [13] コズマ, バル. ブドウ栽培の基礎理論[M]. 东京: 诚文堂新光社出版, 1980: 302-314
- [14] Ruiz D E, Clavijo E, Jimenez M J. Cleistogamy and chasmogamy in *ceratocarpus heterocarpa* (Fumariaceae)[J]. Int J Plant Sci, 1993, 154(2): 325-333
- [15] Cheplick G P, Kane K H, Gregory P, et al. Genetic relatedness and competition in *Triplasis Purpurea* (Poaceae) partitioning or kin selection[J]. Int J Plant Sci, 2004, 165(4): 623-630
- [16] 陈兆波, 栗茂腾, 蔡得田. 开颖授粉水稻 T168 和闭颖授粉水稻 CL01 的花丝结构比较[J]. 华中农业大学学报, 2002, 21(4): 315-320
- [17] Lord E M. Cleistogamy: a tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution[J]. Bot Rev, 1981, 47: 421-449
- [18] Henrik Berg. Population dynamics in *Oxalis acetosella*: the significance of sexual reproduction in a clonal, cleistogamous forest herb[J]. Ecography, 2002, 25: 233-243