

葡萄大小孢子发生及雌雄配子体的发育*

孙善英 马玉英

(西北农学院植物教研组)

前 言

葡萄胚胎学研究,在葡萄生产及育种工作上均有重要意义。国外曾有人进行过研究^[1],但国内研究不多,目前只在小孢子发育方面有些报导^{[2][3]}。本试验主要是对葡萄大小孢子发生及雌雄配子体的发育,作些初步探讨,为葡萄生产、育种及教学工作提供些资料。

材料和方法

供试葡萄品种是波拉华依(Плэвэй)及玫瑰香(Mnscat of Hambnrg),均栽培在西北农学院果树站葡萄试验园内,田间管理与其它品种相同;二品种均选择五株生长较一致的植株作为取样树。在自然条件下,于1983年4月中旬芽萌发后出现花序开始至5月下旬开花后一周止。每日上午10时至11时,在每株出现最早的花序中部,采集每小穗中央花蕾20—30个,花蕾太小时采集小穗。材料用改良卡诺氏液固定(酒精:冰醋酸:氯仿,3:1:4)^[4],为观察花粉粒在柱头上的萌发及精子进入胚囊的情况,在花后32小时内,每隔二小时观察记载花粉粒在柱头上萌发的情况,并固定雌蕊以备切片。雄配子体的发育主要用涂片法,45%醋酸洋红或丙酸—水合氯醛—铁矾苏木精染色。大孢子发生及雌配子体的发育用石蜡包埋,纵切片厚度6,8,12微米,用海登汉铁矾苏木精染色^[5],固绿复染^[6]。

用扫描电子显微镜观察了花粉粒的形态。

观 察 结 果

一、小孢子发生及雄配子体的发育

玫瑰香及波拉华依花药具四个花粉囊,花粉囊壁由表皮、纤维层、三层中间层和绒毡层构成(图1、2)。绒毡层属分泌型^[7],2—4核(图2),小孢子发育到二核初期,绒毡层全部解体消失。

随着花药的发育,在幼小的花粉囊内,由孢原组织产生壁细胞及造孢细胞。造孢细

*本院园艺系79级毕业生郭喜霞、安小龙参加部分工作。

胞经过多次分裂产生较多的细胞(图1),这些细胞均发育为小孢子母细胞(图2、3)。小孢子母细胞发育到出现无色透明的胼胝质壁,细胞显著增大,呈圆形或椭圆形,核大,核内周围出现明显可见的清晰区时(图2),便是减数分裂即将开始的标志。此时涂片细胞容易分散。

小孢子母细胞减数分裂形成小孢子四分体,属于同时型(图3—16),排列形状多为缢缩而成的四面体形(图16)。小孢子母细胞减数分裂全过程经历的时间约4天左右,其中减数分裂I前期时间最长,约占3天,中期I至四分体形成,持续时间较短,约1天。同一个花药每个花粉囊中小孢子母细胞分裂是同步的(图3)。

四分体形成后不久,胼胝质壁溶解,每个小孢子游离出来,单个小孢子初为圆形或椭圆形,核大,位于中央,核仁明显,细胞质浓,细胞壁薄(图17),接着出现皱缩(图18),细胞迅速增长,内部出现液泡,核移向一侧(图19)。皱缩期及液泡期持续时间较长,约八天左右。以后细胞质增多,液泡缩小,核进行一次不等分裂,形成生殖细胞及营养细胞。生殖细胞较小,呈纺锤形,靠壁的一侧(图20);营养细胞核大而圆,位于中央。细胞质内出现淀粉粒,最后液泡完全消失。小孢子此时已全部发育为二细胞的雄配子体。散粉时仍处于二细胞时期,而生殖细胞已进入营养细胞,游离于营养细胞质中,核为锥形,处于有丝分裂前期^[9],染色体清晰可见(图21)。成熟的花粉粒为矩圆形,外壁具小穴状雕纹,沿长轴有三条深沟,在沟内中部有一萌发孔(图22)。

二、大孢子发生及雌配子体的发育

花序出现后,花序上的每个花蕾迅速生长,幼小的子房内在中轴胎座的基部先产生珠心原基,并在其顶端表皮下形成一孢原细胞(图23);接着在珠心原基的基部由表皮细胞体积增大伸长,发展为内珠被原始细胞^[6](图24)。随着胚珠的发育,内珠被原始细胞进行平周及垂周分裂,形成内珠被。在内珠被原始细胞形成后,接着又在内珠被基部下,以同样的方式形成外珠被。在形成珠被原基的同时,随着珠被的生长,幼小的胚珠开始向一侧弯曲,最后形成倒生胚珠。珠被发育过程中,内珠被生长较外珠被快,当大孢子四分体形成时,内珠被生长达到珠心顶端,外珠被才达珠心上部(图31),以后外珠被也生长到珠心顶部。内珠被顶端细胞衍生增厚而形成“盖”,珠孔明显(图38)。

波拉华依及玫瑰香幼小的胚珠出现珠被原基时,孢原细胞体积进一步增大(图24),接着进行一次平周分裂,产生一个周缘细胞和一个造孢细胞(图25)。同时,内珠被已向上突起,外珠被原基形成,胚珠开始弯曲(图25、26)。周缘细胞形成后进行分裂,形成多层(20多层)细胞,以后珠心顶部表皮细胞也行分裂,形成多层(8层)细胞,这些多层细胞构成珠心冠(图38)。珠心属于厚珠心^[7]。当胚珠弯曲达90度时,造孢细胞就发展为体积大、核大、核仁显著的大孢子母细胞(图27)。当胚珠更加弯曲时,大孢子母细胞开始减数分裂(图28—31)。整个过程持续约三天,最后形成大孢子四分体;大孢子四分体为直线型^[7](图31)。以后,珠孔端三个大孢子消失(图32),合

点端一个大孢子发育为单核胚囊（图33、34）、二核胚囊（图35）、四核胚囊（图36）及八核胚囊（图37）。八核胚囊发育至始花期，胚囊完全成熟，胚囊发育属 蓼型^[7]（图41、42）。成熟的胚囊中，三个反足细胞消失（图39、41），二极核合并为次生核（图40），受精前由胚囊中央移向卵器下方（图43、46）。卵器有二助细胞及一卵细胞（图41、42、43）。卵细胞初形成时较小（图40），以后增大为梨形，核大而圆，有一个明显的核仁，周围具有淀粉粒，位于细胞的合点端；卵细胞珠孔端有一个大液泡（图43、44）。助细胞珠孔端有丝状器，合点端有几个较大的液泡，核位于细胞的中部，靠卵细胞的一侧（图42），受精前助细胞之一退化，其内具有X体（图44）。

三、玫瑰香与波拉华依大小孢子发生及雌雄配子体发育时期（表1）

表1 玫瑰香与波拉华依葡萄大小孢子发生及雌雄配子体发育时期比较 （1983年）

品种 发育期		日期				五 月 份																			
		27	28	29	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
小孢子及雄配子体发育时期	玫瑰香	小孢子母细胞发育时期				小孢子母细胞减数分裂时期				单核中央小孢子		皱缩期及液泡期的小孢子					二细胞花粉粒				始花期				
	波拉华依	小孢子母细胞发期时期				小孢子母细胞减数分裂时期				单核中央小孢子		皱缩期及液泡期小孢子					二细胞花粉粒				始花期				
大孢子及雌配子体发育时期	玫瑰香	孢原细胞				大孢子母细胞形成时期				大孢子母细胞减数分裂时期		单核胚囊	二核胚囊	四核胚囊	八核胚囊	成熟胚囊									
	波拉华依	孢原细胞				大孢子母细胞形成时期				大孢子母细胞减数分裂时期		单核胚囊	二核胚囊	四核及八核胚囊		成熟胚囊									

通过玫瑰香与波拉华依大小孢子发生及雌雄配子体发育时期的比较，可以看出：

1. 玫瑰香与波拉华依大小孢子发生及雌雄配子体发育的各个时期, 所经历的时间长短基本一致。

2. 由于二品种物候期不同, 玫瑰香各个发育时期均比波拉华依早2—3天。

3. 二品种小孢子发生及雄配子体的发育与大孢子发生、雌配子体发育不是同步的。小孢子母细胞形成早, 雄配子体成熟早, 大孢子母细胞形成迟, 雌配子体成熟晚。

四、花粉粒在柱头上萌发及花粉管进入胚囊的情况

玫瑰香及波拉华依花粉粒传粉后6—8小时内柱头上萌发(图45), 32小时后花粉管已进入胚囊, 通过退化助细胞, 散出营养细胞及二精子; 此时看到有的胚囊内精子已进入卵细胞及中央细胞(图46); 有的胚囊内精子紧靠在卵细胞的顶端。

讨 论

一、关于葡萄雌、雄配子体发育的胚胎学特征, 我们的观察结果与Баранов, Л. А. 的描述是一致的^[1]。花药为四个花粉囊; 分泌型绒毡层; 小孢子母细胞减数分裂为同时型; 二细胞花粉粒。胚珠为倒生胚珠, 两层珠被, 厚珠心, 直线型大孢子四分体, 蓼型胚囊等。

二、葡萄大小孢子发生及雌雄配子体的发育时期, 是葡萄整个生活周期中最关键的时刻, 管理不善或持续低温都会造成大小孢子发育受阻, 影响当年产量。

三、根据观察结果, 要利用玫瑰香、波拉华依进行人工杂交, 采集花粉或去雄, 在始花前2—3天较为适宜, 因为此时花粉刚形成二核, 尚需再发育一定的时间才能完全成熟。同时花药的纤维层也未成熟, 花药不易开裂, 只要去雄时技术上稍加注意, 可以极大地减少自交结实。再加上用自来水充分冲洗的措施^[8], 可以消除不属于“闭花受精”葡萄的自交结实。此外依据胚囊成熟的时期及花粉粒在柱头上萌发的时间, 我们设想, 只要在开花后四小时以前去雄, 并用水充分冲洗, 同样可以显著的减少自交结实。但真正属于“闭花受精”的葡萄品种必须提早去雄。

四、观察结果证明: 玫瑰香及波拉华依均不存在“闭花受精”现象, 而是自花授粉。因为(1)雌配子体(胚囊)临近始花期才充分发育成熟; (2)开花前落在柱头上的极少数花粉粒没有萌发的; (3)通过切片观察, 开花后24小时前, 胚囊内未看到退化助细胞, 也未看到花粉管。只是在开花后32小时的胚囊内看到有退化助细胞和由花粉管散出的二精子。

参 考 文 献

1. Баранов, Л. А. Строение Виноградной Лозы. Амелорафия СССР, Т. I, 1946, Москва.

2. 吴宝金: “北方主要果树小孢子发育时期”, 《山西果树》, 1982(1)。

3. 石荫坪等: “果树染色体组成及细胞分裂观察”, 《山东果树》, 1978

(3)。

4. Tasneem F. Khaleel & Bechy B. Mitchell, 1982: *Cytoembryology of Allium Textile* Nels & Macler. *Amer. J. Bot.* 69 (6): 950—956.

5. 郑国辑: 《生物显微技术》, 102, 1979, 人民教育出版社。

6. Kiyohiko Abe, 1982: *Embryological Studies in the family Saxifragaceae* (s.l.) *Amer. J. Bot.* 69 (3): 416—420.

7. Mahshwari P. (陈机译): 《被子植物胚胎学引论》, 1950, 科学出版社。

8. 贺普超等: “葡萄‘闭花受精’与去雄自交结实问题的研究”, 《西北农学院学报》, 1983 (1)。

9. 胡适宜著: 《被子植物胚胎学》, 43—44, 1983, 人民教育出版社。

图 片 说 明

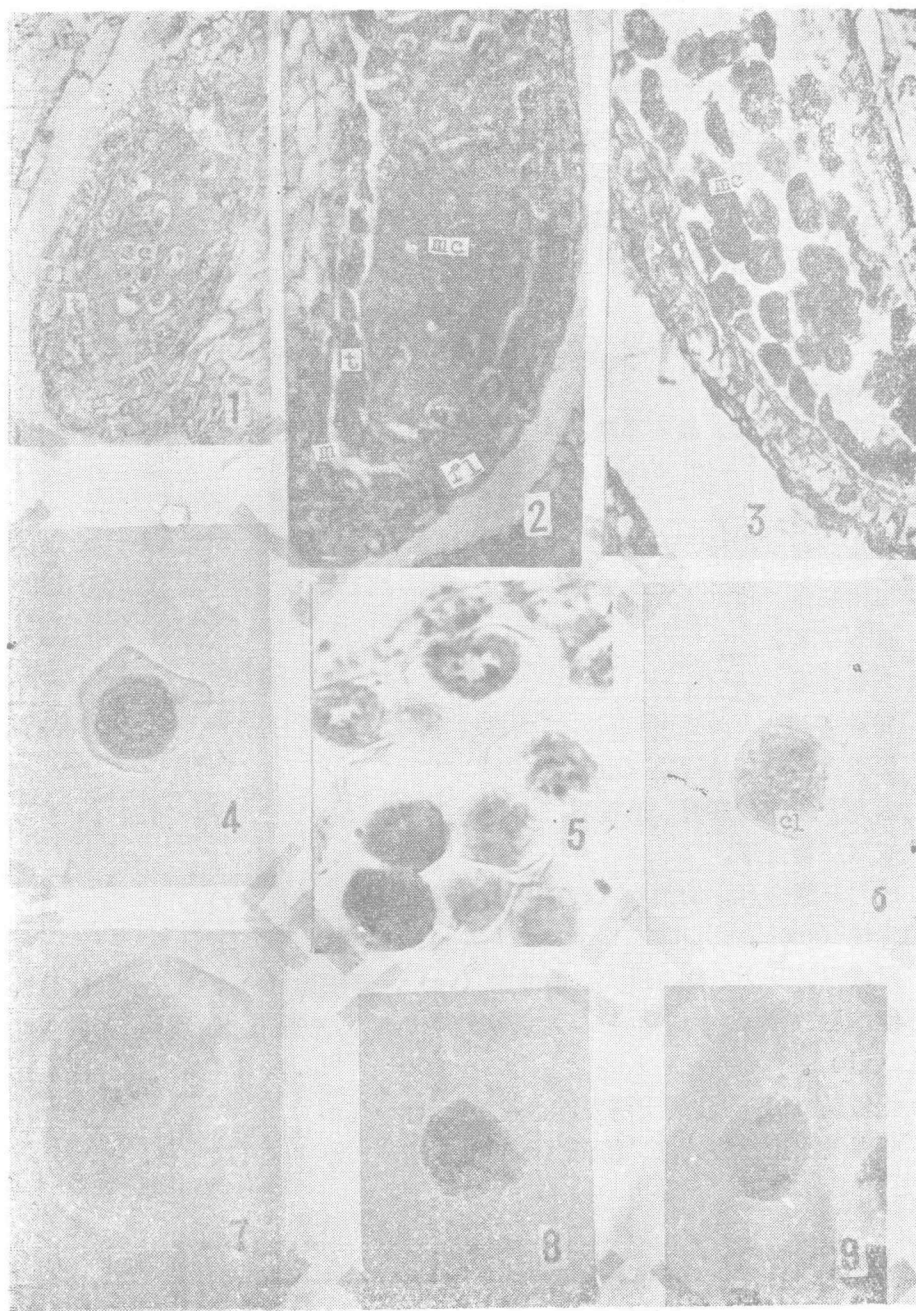
图 1—22: 小孢子发生及雄配子体发育过程

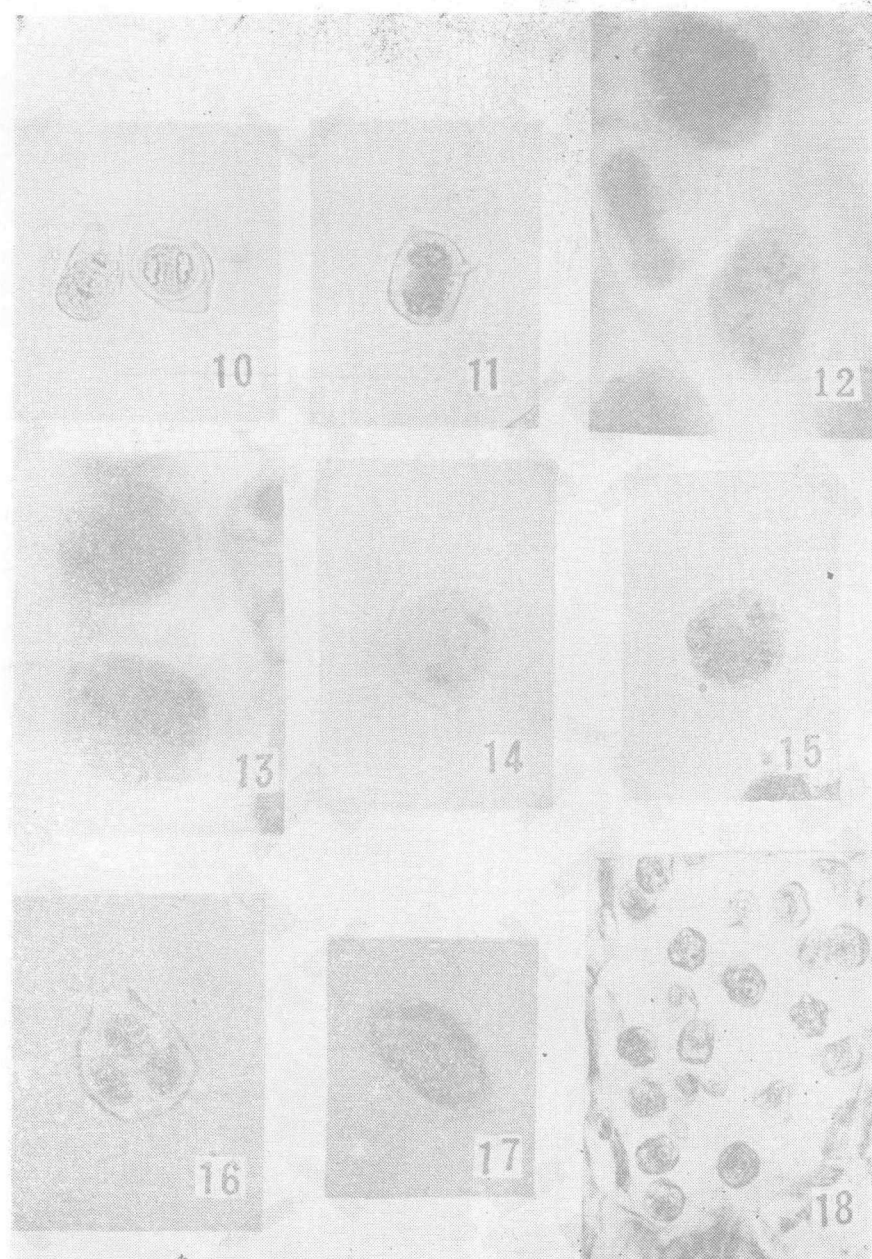
1. 正在发育中的幼小花粉囊。纤维层细胞(fl)正在增大; 中间层(m)尚为一层, 绒毡层(t)为单核; 造孢细胞(sc)正在分裂。
2. 发育完全的花粉囊。纤维层(fl)细胞已增大, 排列整齐; 中间层(m)为三层细胞; 绒毡层为多核。造孢细胞产生的细胞已发育为小孢子母细胞(mc)。
3. 小孢子母细胞(mc)均处在减数分裂前期 I。
4. 小孢子母细胞减数分裂前期 I 的细线期。
5. 小孢子母细胞减数分裂前期 I 的双线期及终变期。
6. 终变期, 可见有十九对染色体(cl)。
7. 小孢子母细胞减数分裂中期 I。
8. 小孢子母细胞减数分裂后期 I。
9. 后期 I。
10. 后期 I 及末期 I。
11. 小孢子二分体。
12. 小孢子母细胞减数分裂前期 II 及中期 II。
13. 小孢子母细胞减数分裂中期 II 及末期 II。
14. 小孢子母细胞减数分裂后期 II。
15. 小孢子母细胞减数分裂末期 II。
16. 小孢子四分体。
17. 刚从小孢子四分体中游离出的小孢子。
18. 皱缩期的小孢子。
19. 单核液泡期小孢子。液泡(v), 核(n)。
20. 二细胞期花粉粒。生殖细胞核(gn), 营养细胞核(vn)。
21. 传粉时的二细胞花粉粒。生殖核(gn), 营养核(vn)。

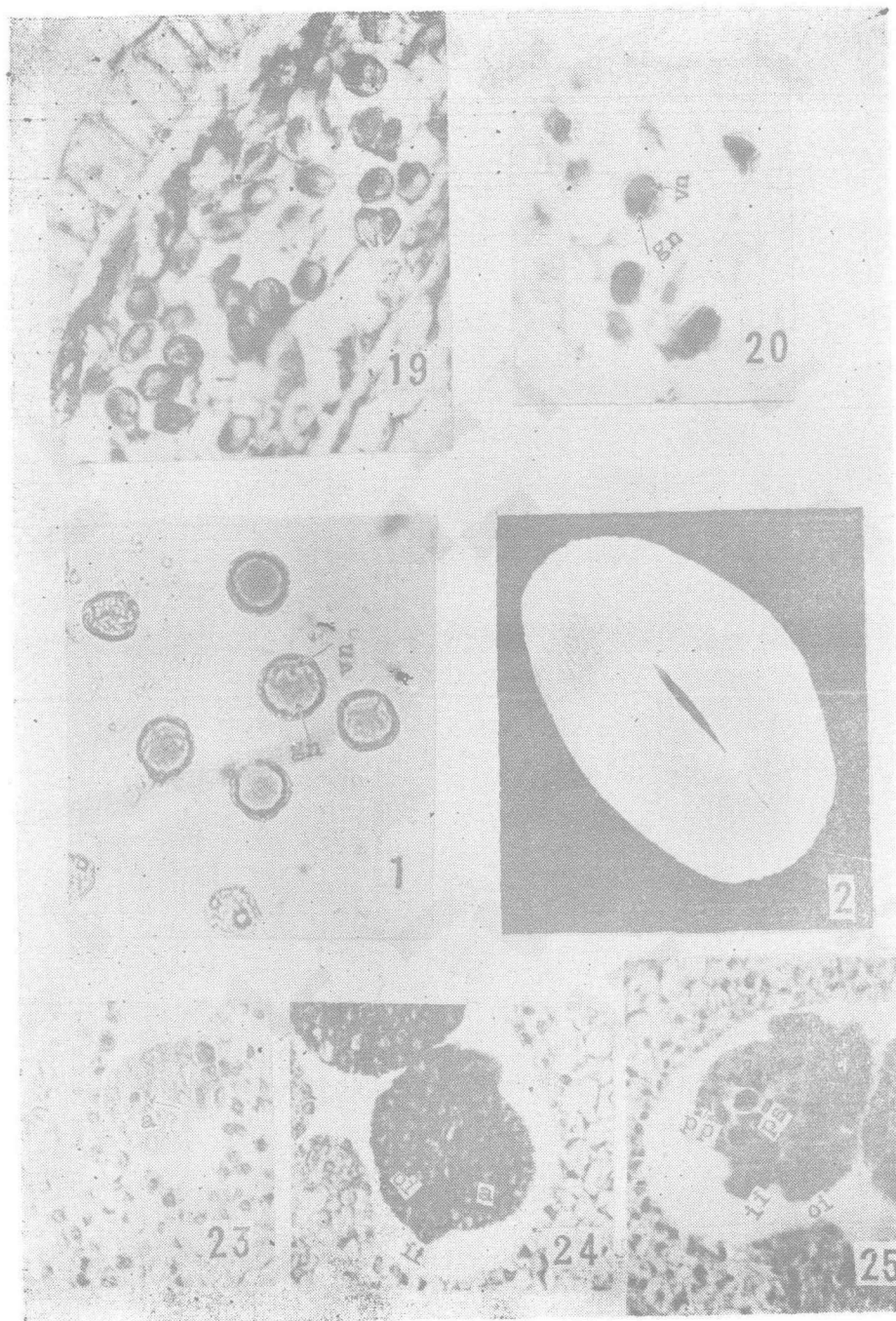
22. 成熟花粉粒外形。扫描电子显微镜照片。×2600

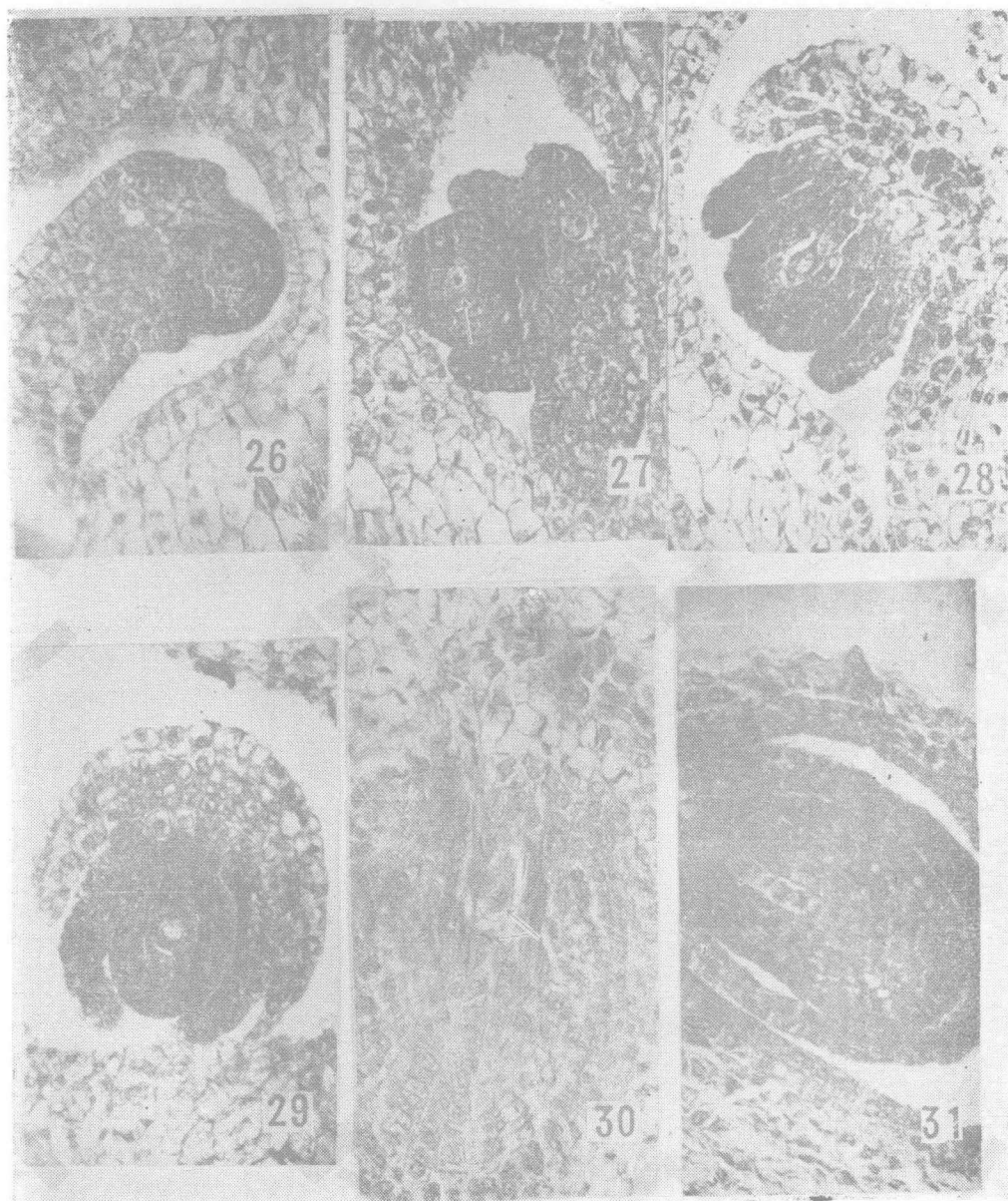
图23—46: 大孢子发生及雌配子体发育过程

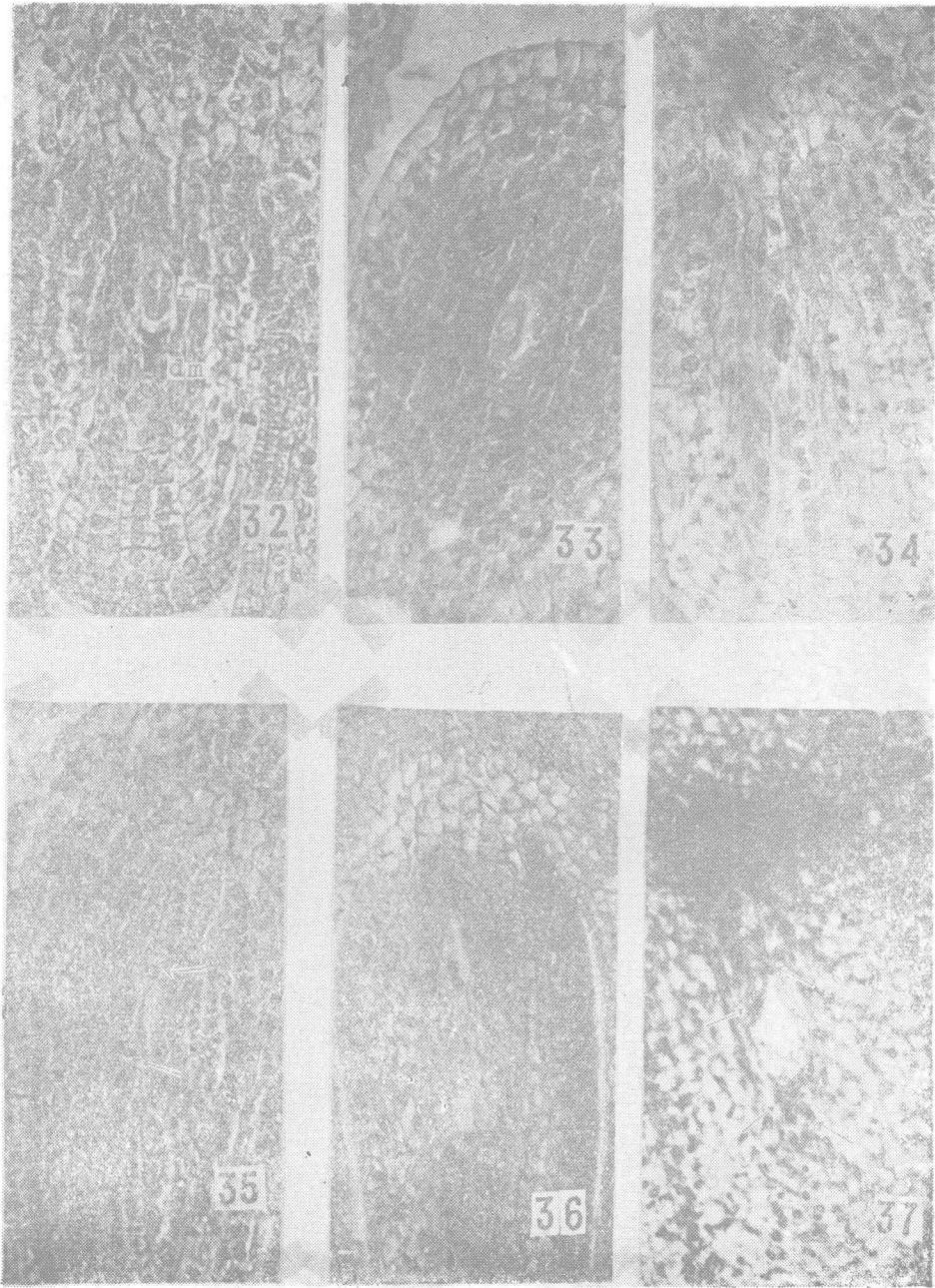
23. 珠心原基及孢原细胞 (a)。
24. 幼小胚珠。内珠被原基 (ii)，外珠被原基 (oi) 及孢原细胞 (a)。
25. 幼小胚珠。周缘细胞 (pp) 及造孢细胞 (ps)。内珠被 (ii)，外珠被 (oi)。
26. 幼小胚珠。周缘细胞分裂形成二层珠心细胞，造孢细胞 (↑) 进一步发育。
27. 珠心弯曲达90度，造孢细胞已发育为大孢子母细胞 (↑)。
28. 大孢子母细胞减数分裂前期 I。
29. 大孢子二分体。
30. 大孢子二分体分裂中期 (↑) (大孢子母细胞减数分裂中期 I)。
31. 大孢子四分体。
32. 大孢子四分体。靠珠心珠孔端三个大孢子退化 (dm)，合点端为有功能大孢子 (fm)。
33. 单核胚囊。
34. 单核胚囊，核正在分裂。
35. 二核胚囊。核 (↑)。
36. 四核胚囊。
37. 八核胚囊。核 (↑)。
38. 胚珠各部分。外珠被 (oi)，内珠被 (ii)，珠孔 (ml)，珠心冠 (nc)。
39. 正在退化的反足细胞 (an)。
40. 未完全成熟的胚囊。助细胞 (sy)，卵细胞 (e)，二极核 (pn)。
41. 成熟胚囊全形。
42. 成熟胚囊全形。助细胞 (sy)，丝状器 (fa)，液泡 (v)，卵细胞 (e)，次生核 (sn)。
43. 图41卵器及次生核的放大。助细胞 (sy)，卵细胞 (e)，次生核 (sn)。
44. 卵细胞 (e)，卵细胞核 (n) 及液泡 (v)，一退化助细胞及其内的X体 (xb)。
45. 花粉粒 (p) 在柱头上萌发产生花粉管 (pt)。
46. 卵器及次生核放大，二精子 (sp) 已分别进入卵细胞及次生核。

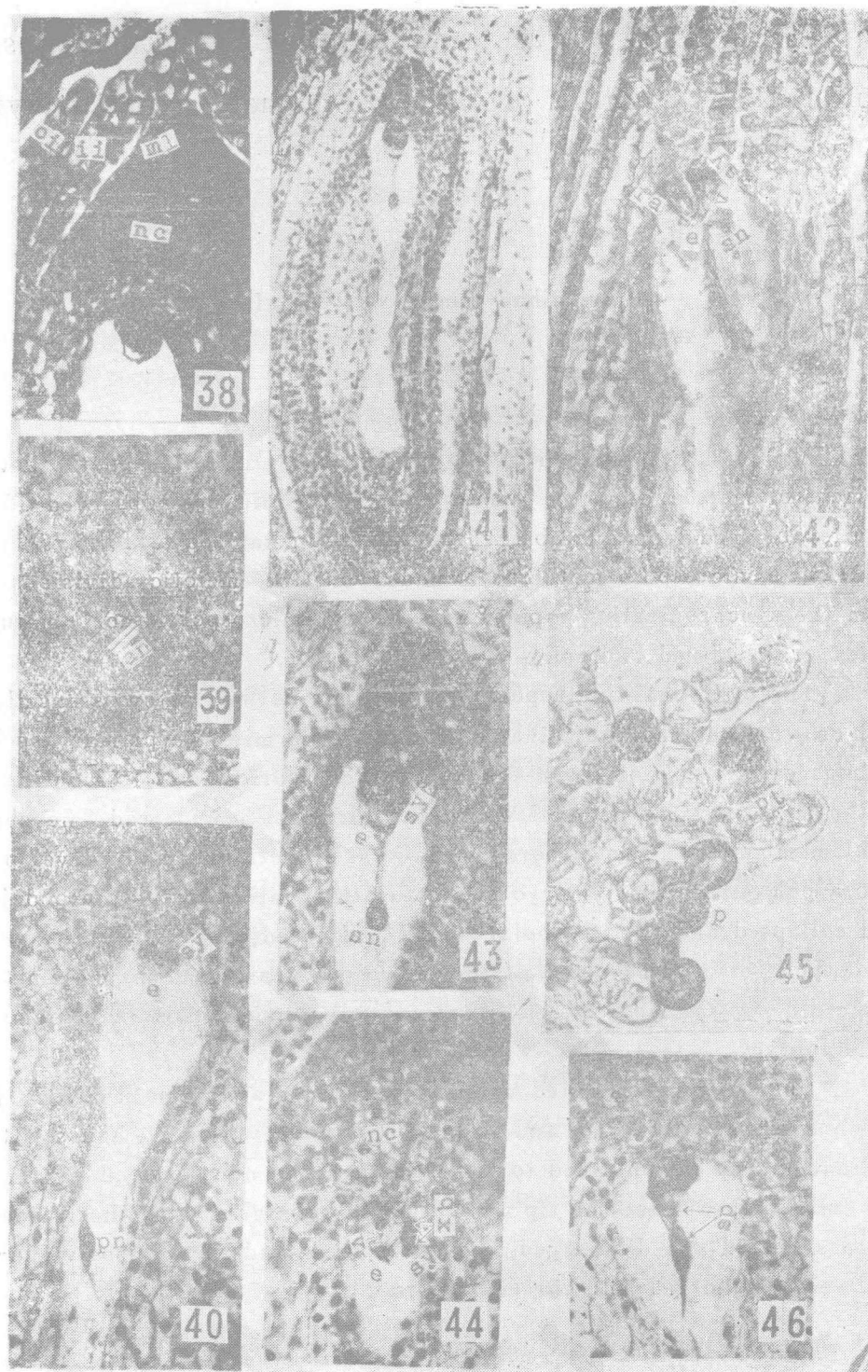












The process of Megasporogenesis and Microsporogenesis and the Development of Male and Female Gametophyte in *Vitis L.*

Sun Shan-ying Ma Yu-ying

Abstract

The process of megasporogenesis and microsporogenesis and the development of male and female gametophyte in *Vitis L.* were observed. The results obtained from the observation were summarized as follows:

1. The microspore mother cell underwent the meiotic divisions to form the synchronization type of tetrahedral microspore. Each mature pollen grain gained two cells.

2. The ovule was anatropous and bitegmic as well as crassinucellate with crown. Integuments originated from the epidermis. The primary sporogenous cell was cut off from the single archesporial cell. It functioned as the megaspore mother cell which can form a linear tetrad. The chalazal member of the megaspore tetrad was functional and developed into a polygonum-type embryo sac. Before the anthesis, the antipodals had collapsed and the two polar nuclei had fused.

3. The developing phase of the microsporogenesis and male gametophyte did not synchronize with that of megasporogenesis and female gametophyte.

4. The pollen germinated within 6-8 hours after pollination. The pollen tube began to grow and reached the ovule within 32 hours after pollination and it continued to grow through the nucellus and reached the embryo sac where the tip of the pollen tube grew into the degenerated synergid and discharged. The two sperms and the vegetative nucleus were discharged into the embryo sac.