

石刁柏大小孢子发生及雌雄配子体的形成

朱 华* 杨淑性

(西北农业大学基础部, 陕西杨陵·712100)

S644-603.2

摘 要 对石刁柏的生殖生物学特性进行了研究, 结果如下: ①花药壁发育为单子叶型, 药壁由表皮、药室内壁、中层、绒毡层4层细胞组成。绒毡层具分泌型及介于分泌型与变形型之间的第3种类型; ②小孢子母细胞减数分裂胞质分裂连续型, 四分体左右对称。成熟花粉粒2细胞, 单萌发沟; ③电镜下, 花粉粒壁具内壁、外壁二层结构。外壁由外壁外层、外壁内层组成, 其中外壁外层又分为覆盖层、基粒棒、基足层3部分。④倒生胚珠, 蓼型胚囊, 助细胞珠孔端具扫帚状分枝丝状器。

关键词 石刁柏, 雌雄异株, 配子体

中图分类号 Q944.46, S567.239

石刁柏(*Asparagus officinalis* L.) 是百合科天门冬属的多年生草本植物, 雌雄异株。由于其嫩茎可食, 且含有芦丁(rutin)可增厚微血管壁及其它多种营养成分对癌症, 心血管病等多种病症具有疗效而具医疗价值及营养价值^[1]。因此, 近年来国内外对石刁柏栽培、育种、生理生化、组织培养等方面的研究较多, 但对其生殖生物学方面的基础研究较少。为此, 我们对石刁柏生殖生物学特性进行了研究, 试图为石刁柏的生产育种实践提供一些资料。

1 材料与方 法

材料取自西北农业大学校园内栽培品种, 4~7月雌雄株分期分批采取不同发育阶段的花蕾, 经卡诺及纳瓦兴液双重固定。花前每周取样2~3次, 花期套袋。常规石蜡切片, 厚度12 μ m。用爱氏苏木精整染及海氏苏木精片染相结合, 观察大小孢子的形成和雌雄配子体的发育与形成。切片用 Olympus-BH, DM-10AD 光学显微镜观察及照相。

此外, 对石刁柏花粉粒壁进行了透射电镜观察。取成熟花药在磷酸缓冲液(pH7.2)的2.5%戊二醛液中预固定, 再用上述缓冲液的1%锇酸后固定。Epon812包埋, LKB V 型超薄切片机切片, 醋酸双氧铀染色, JEM-100CX I 电镜观察照相。

2 观察结果

2.1 石刁柏雌雄异株, 4月上旬雌雄株先后萌动出土, 中、下旬至5月初现蕾开花, 花期延至6月上、中旬。花被6片, 钟形。雄花雄蕊6枚, 与花瓣对生, 雌蕊退化。此外, 少数雄株上具两性花。成熟时, 花药黄色饱满。雌花雄蕊退化, 雌蕊心皮3, 合生, 子房3室, 每室2枚胚珠, 倒生, 柱头3裂, 花柱道中空。

收稿日期: 1992-01-22.

* 现在北京中国科学院植物研究所工作。

2.2 小孢子的发生及雄配子体的形成

2.2.1 花药壁的发育及小孢子母细胞的形成 石刁柏的孢原细胞起源于花药的下表皮细胞。在极幼小的花药横切片面上,四角表皮原下的4个下皮细胞发育为孢原细胞,孢原细胞不均等分裂形成外侧的初生周缘细胞及内侧的初生造孢细胞,前者经几次分裂与表皮共同构成花药壁,后者则进一步发育形成小孢子母细胞,花药壁由4层细胞组成:表皮、药室内壁、中层、绒毡层(图版,1)。

石刁柏绒毡层只有一层细胞,细胞大而质浓,具腺性细胞特征,在小孢子母细胞发育至减数分裂前,其核分裂活跃而成多核或双核细胞。比较特殊的是石刁柏绒毡层具两种类型:分泌绒毡层和第3种类型绒毡层^[3,5](图版,2),所谓第3种类型绒毡层介于腺性绒毡层与变形绒毡层两种基本类型之间。这一现象在玉米麦冬^[3]中也观察到过。

2.2.2 小孢子发生(Microsporogenesis) 当石刁柏刚现蕾;花蕾仅针尖大时,花粉母细胞已进入减数分裂期。小孢子母细胞被胼胝质包被,减数分裂的胞质分裂为连续型(Successive type)。四分体呈左右对称形。(胼胝质包被四分体及小孢子,其功能为同“分子筛”,营养物质可自由通过,但阻止大分子的透过,这样以控制细胞间的物质交流,并保持小孢子之间的独立性。随着小孢子的发育,胼胝质壁溶解,小孢子彼此分离,刚游离出来的小孢子长椭圆形,细胞核染色质较分散,核仁位于中央,随后花粉粒即小孢子变圆,体积逐渐增大,中央出现液泡,小孢子壁明显形成,细胞核从中央移向一侧,不久即进入有丝分裂。分裂完成后形成二核花粉,大小相差明显,呈极性分布,营养核大,圆形,分布在花粉粒中央,生殖核小,梭形,靠近边缘(图版,3),二核进一步发育为营养细胞和生殖细胞。

2.2.3 小孢子电镜下壁的形态及结构 扫描电镜下观察:成熟花粉具单萌发沟、外表雕纹緻密。

透射电镜下:萌发孔位置花粉壁外壁的外层覆盖层退化。成熟花粉粒中央具大量的造脂体,7~10个电子密度大的大小不一的颗粒包被在膜中,形成一个造脂体(图版,4),多分布在营养核、生殖核周围。此外,花粉粒外围分布有圆形颗粒状的花粉鞘(Pollenkitt)(图版,5)^[2],此类物质存在于虫媒植物的花粉粒中,来源于绒毡层质体,以类脂为主,也含部分胡萝卜素,属于疏水物质,分布在花粉外围,填充在花粉粒外壁外层的基粒棒之间,具有保护花粉,有利于传粉的功能。

石刁柏花粉粒的壁透射电镜下可明显分为二层:外壁与内壁。外壁由外壁外层、外壁内层组成,外壁外层又由覆盖层、基粒棒、基足层三部分组成(图版1,6)^[6]。小孢子发育后期,花粉粒外壁内层往往呈指状或片状突起,呈不连续状态,外壁的内层与内壁之间具一条明显的线,而内壁发育较晚。

2.3 大孢子的发生及雌配子体的形成

石刁柏雌蕊子房上位,3心皮3室,每室1~2枚倒生胚珠,中轴胎座,胚珠具内外2层珠被。

2.3.1 大孢子发生 当雌花现蕾时,在中轴胎座处分化出具内珠被的胚珠突起、直立,珠心中央一细胞发育为孢原细胞,并直接行使大孢子母细胞的功能(图版,8)。大孢子母细胞减数分裂,形成4个单倍体大孢子,呈直线排列(图版,9)。合点端1个为功能大孢子,其余3个退化(图版,9)。胚珠此时已由直立转为横生状态。珠柄中出现2~3列整齐排列的

长方形细胞即输导组织,连接着胎座和合点端。从孢原组织至胚囊形成过程中,其内部发育阶段与花外部形态有一定的相关性,其变化规律观察结果见表1。

表1 大孢子形成过程中胚囊的发育与花外部形态的关系

mm

花蕾长度	子房大小 (直径×长度)	胚囊发育阶段	胚珠着生状态
0.9~1.0	≤0.1	孢原组织	直立
1.2	0.1×0.1	大孢子母细胞	直立
1.8	0.5×0.9	减数分裂	横生
2.8	0.9×1.5	四分体大孢子	横生
3.2	1.1×1.8	单个功能大孢子	横生
3.5	1.2×2.0	成熟胚囊	倒生

2.3.2 雌配子体形成 石刁柏胚囊属单孢的蓼型胚囊,由合点端的功能大孢子发育而成(图版,9)。大孢子母细胞接连行3次有丝分裂形成8核胚囊(图版,10、11、12)。珠孔端3核形成2个助细胞和卵细胞构成卵器(图版,12、13),呈“品”字排列。合点端3核形成3个反足细胞。合点端及珠孔端各有1核移至中央形成中央细胞。卵细胞具较浓的核质,但细胞质稍稀薄,近珠孔端,液泡化程度较高。助细胞呈倒楔形,珠孔端细胞壁处形成明显的扫帚状丝状器(图版,13),细胞核及细胞质分布在合点端。丝状器是助细胞壁的内向延伸物,与增大细胞质表面积增强细胞间的短途运输有关。中央细胞液泡大,细胞质稀薄,近胚囊的下部分。光学显微镜下,卵细胞与助细胞在合点端具明显的细胞壁。

4核胚囊时期,在胚囊合点端正下方与胎座相交处,有一些珠心细胞开始分化成厚壁组织,与周围珠心细胞具明显差别,此结构称承珠盘^[2]。承珠盘是作为生长的胚囊的一种屏障与边界,为防止胚囊突进胚珠的基部。此外,承珠盘直接位于维管束末端上方,推测它与胚囊的水分供应有关或有助于很快运输营养物质至胚囊。

3 总结与讨论

(1)石刁柏胚囊属单孢蓼型胚囊。成熟胚囊的助细胞具丝状器;小孢子母细胞减数分裂胞质分裂连续型,小孢子四分体左右对称,这些特征与百合科沿阶草属的麦冬是一致的^[3]。

(2)石刁柏成熟花粉粒属二细胞花粉,具单萌发沟,椭圆形。花药壁的中层为一层细胞,这一特点与徐兆鹏观察到的石刁柏具3层中层细胞不同^[4]。百合科中百合的花药中层具数层细胞,其最外层保留时间较长,甚至能维持至花药成熟,而且象药室内壁一样,细胞壁发生纤维状加厚。我们观察到石刁柏花药壁中层细胞仅只一层,随小孢子的发育最终与绒毡层一样分解消失。

(3)石刁柏绒毡层为一层细胞。有两种类型绒毡层细胞:腺性绒毡层及介于腺性与变形绒毡层之间的第3种类型绒毡层。这与在麦冬及玉米中观察到的现象一致^[3]。第3种类型绒毡层在小孢子发育早期即小孢子刚从四分体中分离出来时分散在整个花药室腔中,绒毡层分解的细胞与小孢子混在一起,在花粉的发育中逐渐消解释放内含物以提供营养。小孢子至二核期时,绒毡层消失。这种介于分泌与变形绒毡层之间的绒毡层类型,库柏尔提出此种类型为第3种类型^[3]。

(4)石刁柏绒毡层质膜上在透射电镜观察下发现分布有大量的乌氏体(ubishbody)(图版,7)。多个乌氏体聚集一起形成乌氏复合体。石刁柏乌氏体同小麦等大多数植物一样,中央部分电子密度小,呈透明状,为均匀基质。周围是沉积的孢粉素的壁,其电子密度大,不透明,孢粉素壁呈刺状突起。关于乌氏体的起源有几种说法:百合属(*Lilium*)葱属(*Allium*)、铁筷子属(*Helleborus*)曾报道是内质网起源^[5],白皮松中观察到是线粒体起源^[5~7]Heslop-Harrison 等认为百合科植物的乌氏体不形成复合体^[10],但在知母(*Anemarrhena asphodeloides*)、酢浆草属(*Oxalis*)、蝇子草属(*Silene*)、铁筷子属中具明显的复合聚合体^[9]。关于乌氏体的形状、大小在分类上具一定价值。

(5)石刁柏具雄全同株(*andromondecious plants*)^[10,11]。此种现象自然界很少,石刁柏原属雌雄异株,但有少量雄株中除雄花外,还有两性花。雄全同株在石刁柏的超雄F₁、杂交育种中具有重要意义^[11,12]。本文观察到这种两性花的雄雌蕊发育不同步,大孢子母细胞时期分别与小孢子初生造孢时期、造孢时期、小孢子母细胞时期及小孢子母细胞减数分裂的二分体、四分体等时期同步。关于雄全同株及产生这一现象的机理还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 李宏毅. 芦笋栽培与加工. 北京:农业出版社,1982
- 2 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京:人民教育出版社,1983
- 3 李平,郑学经,黄旭. 麦冬的胚胎学研究——大小孢子发生,雌雄配子体形成过程及多糖物质动态. 四川大学学报(自然科学版),1989;26:101~108
- 4 徐兆鹏. 石刁柏胚胎学研究. 见第三届全国生殖生物学学术讨论会论文集,1990
- 5 陈祖镗. 绒毡层的结构,功能与系统演化. 植物杂志,1990;3:4~5
- 6 陈祖镗,席以珍. 花粉粒壁的分化、功能和演化意义. 植物杂志,1990;4:6~8
- 7 陈祖镗,王伏雄,周霞. 白皮松绒毡层细胞超微结构研究. 植物学报,1987;29:486~491
- 8 Heslop-Harrison J. Origin of exine. *Nature*(London), 1962;195:1069~1071
- 9 陈祖镗,王伏雄,周霞. 知母绒毡层和乌氏体细微结构的研究. 植物学报,1988;30(1):1~5
- 10 Lincoln C. Perice. Vegetable characteristic production and marketing. John wiley and sons, INC. 1987
- 11 Loptien H. The superiority of male Asparagus genetics and sex inheritance in Asparagus. *Life Science*, 1990;3(2):5~7
- 12 Mark J. Bassett. Breeding vegetable crops-Asparagus breeding. The avi publishing company. INC, 1986

Microsporogenesis and Megaspороgenesis and Formation of Male and Female Gametophyte in *Asparagus officinalis*. L.

Zhu Hua Yang Shuxing

(Basic Course Department, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The reproductive or genesis biocharacteristics of *Asparagus officinalis* L. were studied with the research results shown in the following:

1. The type of anther development is monocotyledonous. Anther wall consists of four-layer cells including epidermis, endothecium, Middle layer and tapetum. The tapetum is of the secretory type and the third type between the secretory type and the amoeboid type.

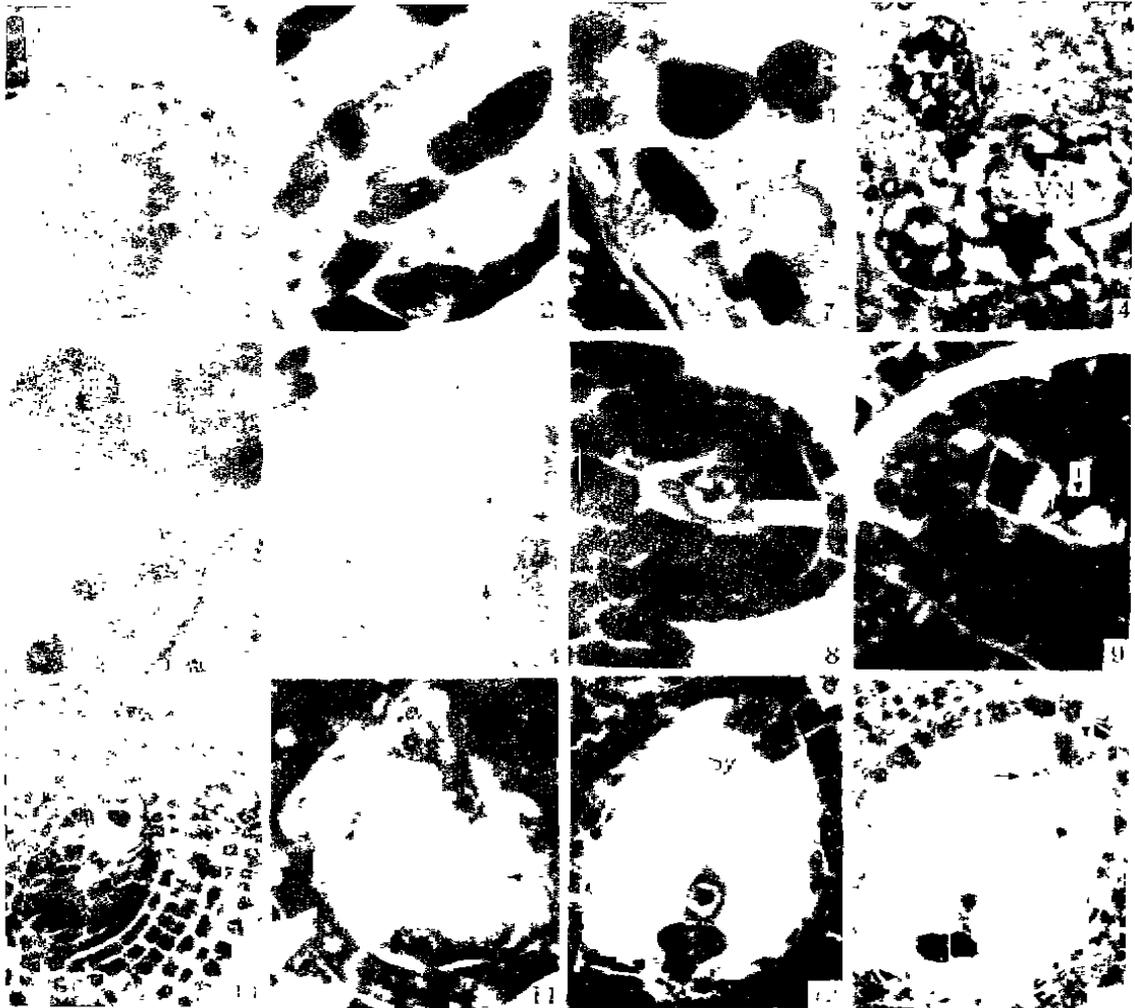
2. The meiosis of microspore mother cell is the cytokinesis successive type, The type of arrangement of tetrad is bilateral. The mature pollen grain has two cells with mono-mono-germinal furrow.

3. Under electron microscope, the mature pollen grain wall consists of exine and intine. The exine is divided into sexine and nexine. of which, the sexine consists of bacularium, tectum and foot layer.

4. Anatroous ovuleo polygonum type, the synergids has broomy branch filiform apparatus on micropylar.

Key words *Asparagus officinalis*, heterothallism, gametophyte

附图版, 见下页。



图版说明:1、正在发育的幼小花粉囊,表皮(↑),药室内壁(↑),中层(←)绒毡层(↓)及小孢子母细胞(Mic),×450
 2、第三种类型绒毡层,绒毡层细胞断裂融入小孢子囊腔,与单核小孢子混在一起,×630 3、成熟花粉粒,示营养核(←)及生殖核(→),×630 4、透射电镜下花粉粒中的营养核(VN),生殖核(GN),及造脂体(↑),×40000。5、绒毡层分泌的花粉鞘(pollinkitt),填充在基粒棒之间的空腔中(→)×20000 6、花粉粒壁的结构,花粉粒外壁外层的覆盖层(↓),基粒棒(←)基足层(→),外壁内层(↓),花粉内壁(→),×30000 7、绒毡层膜上的乌氏体(UB),×30000 8、幼小胚珠中的大孢子母细胞(MMC),×630 9、大孢子母细胞减数分裂形成的4个大孢子,合点端为功能大孢子(↓),×450 10、2核胚囊(→),×210 11、4核胚囊(←),×450 12、8核胚囊,3个反足细胞(Ant),1个下极核(PN),2个助细胞(SY),助细胞珠孔端的扫帚状丝状器,×210, 13、8核胚囊,示卵细胞(←),助胞的丝状器(↓),×210。