

葡萄双受精过程的形态学观察

孙善英 马玉英 和纯成

(西北农业大学基础课部)

摘 要

观察了葡萄双受精过程中雌雄性核的融合。结果表明:花粉管通过珠孔穿入退化助细胞,释放出二精子;精子核接近并贴附在卵核和次生核上,二者核膜融合,精核沉入卵核及次生核,染色质松解,并与雌性核染色质融合,出现雄性核仁,两性核仁融合,形成合子及初生胚乳核。卵核完成受精较次生核晚。受精属有丝分裂前型。精核进入卵核前看到了它的核仁。少数胚囊具有两套卵器。

关键词 葡萄;双受精;精核;卵核;合子

葡萄是近年来发展较快,经济价值较高的重要果树之一。深入了解葡萄双受精过程的形态学及细胞学特征,特别是了解雌雄性细胞的动态及其中物质的代谢,对加速培育葡萄优良品种,具有重要的理论和实际意义。然而葡萄受精过程的研究是很不够的,国外 ТаРаНОВ^[7]有过一些简单的描述,但国内尚未见有报道。本工作对葡萄双受精过程的形态学作了较系统的观察。

材料和方法

以葡萄品种早玫瑰、玫瑰香及波拉华依为材料,在田间栽培条件下,于盛花期当日早晨7~8时除去前一天开放的花,于9时20分保留刚开放的花,除去未开的花蕾,共处理20个花序。从开花时起每隔1小时采集固定15~20个雌蕊,共进行48小时,用卡诺氏液固定6小时,转入70%酒精保存。石蜡包埋,连续切片厚度8~12微米,海氏苏木精染色,固绿复染。用荧光染色法观察花粉粒在柱头上的萌发。

观察结果

(一) 花粉管进入胚囊的时间及途径

通过荧光染色法观察花后6~8小时花粉粒在柱头上萌发(图版I, 1),花后29~30小时花粉管进入胚囊,花后29~34小时受精。

本文于1985年12月16日收到。

葡萄的柱头表面由一层长形的乳突状细胞构成,为湿型柱头。花柱为实心型花柱^[10]。花粉粒萌发后花粉管通过柱头组织进入花柱,沿引导组织伸入子房。穿过珠孔从厚珠心排列成行的细胞相接的行间达到胚囊(图版 I, 2)。从一个开始退化的助细胞丝状器进入助细胞,随着助细胞的破坏而释放出二精子。退化助细胞中可见有X体,所以葡萄为珠孔受精(图版 I, 3)。

(二) 受精前胚囊的结构

胚囊属蓼型^[4],受精前卵细胞多数呈洋梨形,细胞质稀少,紧贴细胞的合点端成一薄层;细胞珠孔端有一大液泡,核位于细胞的顶部或稍偏于一侧,核仁较小(图版 I, 4)。助细胞也呈洋梨形,位置与卵细胞呈三足鼎立状,细胞珠孔端具有指状分枝丝状器,浓厚的细胞质及大而明显的核都集中分布在细胞的珠孔端,一个或几个大液泡分布在细胞的合点端(图版 I, 5)。助细胞核仁大而显著,比卵细胞核仁大近一倍,助细胞核仁平均直径3.12微米,卵核核仁为1.66微米(图版 I, 6)。受精前二极核都已合并为次生核,核内有一个特大而显著的核仁,位于卵细胞顶部附近(图版 I, 7)。

此外,在早玫瑰葡萄的胚珠中看到一个胚囊内具有两套卵器,位于胚囊珠孔端的两侧,共有四个助细胞,二个卵细胞(图版 I, 8)。

(三) 双受精过程

1. 精子与卵细胞的融合

由花粉管释放出的精子,结构致密着色很深,分辨不出核与细胞质的界限,形状为长椭圆形(图版 I, 9),二精子分别移向卵细胞及次生核,在移动过程中形状变为近球形或短椭圆形(图版 I, 10)。移至卵细胞的精子贴附于卵细胞的顶部或顶部一侧,精子的形状又变为椭圆的双凸透镜形(图版 I, 11)。染色质开始松散,卵细胞核在精子贴附卵细胞时,位置都在精子贴附处的内侧,因此精子一进入卵细胞就与卵核膜贴在一起了,在此时可看到精子染色质中显露出一个核仁(图版 I, 12)。然后雌雄性核之间的核膜融合,精核沉入卵核,在花后31小时固定的材料中看到精核已进入了卵核,进入卵核的精核在核膜内侧呈浓集的一团(图版 I, 13)。随后精核浓集的染色质开始松散(图版 I, 14),精核染色质进一步松散中出现一个雄性小核仁(图版 I, 15),雄性核仁出现后逐渐增大体积,至花后32小时雄性核仁与卵核仁近于等大(图版 I, 16)。此时精核染色质在松散的过程中与卵核染色质完全融合(图版 I, 17),最后近于等大的雌雄性核仁相互靠在一起而融合(图版 I, 17、18),形成一个具有大核仁的合子(图版 I, 19),精卵融合结束。受精属于有丝分裂前型。合子第一次分裂发生在花后34小时(图版 I, 20)。

2. 精子与次生核的融合

从花粉管释放出的一个精子趋向卵细胞时,另一个精子就移动到次生核周围的原生质中(图版 I, 21)。次生核开始向胚囊中央移动,在移动的过程中完成受精。精子与次生核融合过程类似精卵融合,速度较快。花后31小时精子靠近次生核(图版 I, 22),贴附于次生核核膜上,二者核膜融合,精核立即进入次生核(图版 I, 23),此时在次

生核中有较明显的染色质颗粒和丝状结构(图版Ⅰ, 24)。随后在松散的精核染色质中出现一个小核仁(图版Ⅰ, 25), 核仁也逐渐增大(图版Ⅰ, 26), 体积达到一定大小时与次生核核仁融合(图版Ⅰ, 27)。花后32小时, 核仁融合后形成具有一个特大核仁的初生胚乳核(图版Ⅰ, 28、29)。此时初生胚乳核中的染色质颗粒和染色线显著增加, 核周围的染色质也更为浓厚, 初生胚乳核就进入第一次分裂的前期(图版Ⅰ, 30)及中期(图版Ⅰ, 31)。花后33小时观察到2~4个胚乳核(图版Ⅰ, 32), 花后36小时胚乳核进行无丝分裂(图版Ⅰ, 33)。

讨 论

1. 葡萄成熟胚囊在结构上的特殊现象

在早玫瑰葡萄的胚囊中具有两套卵器, 这两套卵器每个细胞在形态上与正常卵器一样, 以往在有关蓼型胚囊及其他类型胚囊结构的描述中^[5, 6], 均未提到过这种特殊现象。在本试验中, 看到有少数胚珠内大孢子四分体发育中只有珠孔端的两个退化, 靠合点端的两个同时发育, 均为功能大孢子, 这样我们推测一个胚囊内的二套卵器是由这两个大孢子核经过分裂而分别形成的。

2. 花粉管进入胚囊的途径及精子的形态变化

花粉管进入胚囊时, 和一些学者观察到的一样^[4, 9, 10], 多数是通过一个正在退化助细胞的基部进入助细胞, 并在其中释放出内含物, 随着助细胞的破坏, 二精子分别移向卵细胞及次生核。而葡萄助细胞的退化时间是在花粉管进入丝状器的时候。另一未退化助细胞解体消失较晚, 一般在合子进行第一次分裂时才完全消失。

精子的形态正如曾报道过的那样^[5, 6], 整个受精过程中常常发生变化。葡萄精子从花粉管释放出时, 结构致密、染色质凝集, 形状为长椭圆形, 后在移动的过程中变为近球形或短椭圆形, 当贴附卵细胞时又变为椭圆的双凸透镜形, 染色质开始松散, 并露出一个核仁, 我们认为精子的变形与其主动运动有关。

3. 受精过程中雌雄核仁的融合

这个问题曾有过不同的意见, 但经过近年来的工作, 许多学者分别在水稻^[2]、小麦、棉花^[1]、蚕豆^[3]等植物的受精过程中都观察到了雄性核仁的出现及雌雄性核仁的融合, 我们在葡萄受精过程中也看到了雌性核内出现核仁, 核仁增大及二核仁的融合。我们不仅在雌性核内看到了雄性核仁的出现, 而且在精子紧贴卵细胞时也看到了雄性核仁的出现。这说明精子是一个细胞, 核内原先就存在核仁, 随其染色质的松散在受精的某一时期就显露出来。

此外, 关于精子与次生核的融合速度比精卵融合快的问题, 这一点在葡萄的受精过程中表现得更为突出, 葡萄初生胚乳核形成后开始第一次分裂或已产生二胚乳核时, 精卵的核仁等大或正在融合, 从时间上看次生核完成受精比卵核约快1~2小时。我们认为这与葡萄胚囊内反足细胞消失较早有关, 初生胚乳核形成得早, 分裂快, 可以保证早期胚胎发育的营养供应。

参 考 文 献

- [1] 胡适宜、朱激：高等植物受精作用中雄性核和雌性核的融合。《植物学报》，21，1979：1—10。
- [2] 吴素萱、蔡起贵：水稻双受精过程的细胞学观察，《植物学报》，13，1965：114—122。
- [3] 王耀芝、赵群：蚕豆双受精过程的观察，《植物学报》，23，1981：345—350。
- [4] 孙善英、马玉英：葡萄大小孢子发生及雌雄配子体的发育，《西北农学院学报》，1984(4)：106—111。
- [5] Maheshwari, P. 著, 陈机译：《被子植物胚胎学引论》，科学出版社，1950：195—205。
- [6] 胡适宜：《被子植物胚胎学》，人民教育出版社，1983：80—100。
- [7] Баранов, П.А.: Амепмография, СССР, Оплодмворение, 1946: 328—329.
- [8] Cass, D.D., et al: Fertilization in Barley, Amer.J.Bot., 57, 1970: 60—69.
- [9] Jensen, W.A. and Fisher, D.B. Cotten embryogenesis: The entrance and discharge of the Pollen tube in the embryo sac. Planta, 78, 1968: 158—183.
- [10] Sassen, M.M.A.: The stylar transmitting Tissue, Acta Bot. Neerl. 23, 1974, 99—100.

A Morphological Observation of the Process of Double Fertilization of *Vitis*.L.

Sun Shanying Ma Yuying He Chuncheng

(*Northwestern Agricultural University*)

Abstract

We made an observation of the process of the fusion of male and female nuclei in the double fertilization *Vitis*.L. The results indicated: after the pollen tube pieced into the embryo sac through the micropyle, two sperms were released. Sperm nucleus is close and presses close to the egg nucleus and the secondary nucleus. Thus, the fusion of nuclear membrane between the male and female nuclei occurred. The sperm nucleus sinks into the egg nucleus and the secondary nucleus, and the male chromatin disperses and fuses with the female chromatin, from which the male nucleus arises. Thus far, the male and female nuclei are fused together to form the zygote and the primary endosperm nucleus. The completion of fertilization in the egg nucleus is later than that in the secondary nucleus. This fertilization belongs to the premitotic type. We also observed its nucleus before the sperm nucleus entered into the egg nucleus. A few of embryo sac contain two sets of egg apparatus.

Key Words grape, double fertilization, sperm nucleus, egg nucleus, zygote

孙善英等：葡萄双受精过程的形态学观察 图版 I



- 1.花粉粒在柱头上萌发及花粉管进入花柱；2.花粉管通过珠孔，穿入助细胞；3.退化助细胞破坏，花粉管释放出内含物（x体—x^b，精子—♂）；4.卵细胞（核—♀，液泡—V）；5.助细胞（sy）；6.示助细胞核仁（n）比卵细胞核仁（♀）大；7.受精前次生核（sn）的位置；8.一个胚囊内具有两套卵器；9.刚释放到胚囊内的精子；10.移动中的精子形态（近球形）；11.精核（♂）贴附于卵细胞及次生核上，形状为双凸透镜形；12.上图放大贴附卵细胞上的精核可见到核仁；13.精核进入卵核；14.精核染色质在卵核内松散。

孙善英等：葡萄双受精过程的形态学观察 图版 I



15. 精子染色质在卵核内进一步松散, 出现雄性小核仁 (↑); 16. 雄性小核仁 (↑) 增大; 17. 雄性核仁与雌性核仁等大开始融合; 18. 精核染色质与卵核染色质完全融合, 二核仁融合即将完成; 19. 合子形成; 20. 花后34小时合子开始第一次分裂; 21. 精子移至次生核外的原生质中; 22. 精核贴附于次生核膜上; 23. 精核与次生核膜融合, 精核进入次生核; 24. 精核染色质进一步松散; 25. 次生核内出现一雄性小核仁 (↑); 26. 雄性核仁增大, 并向次生核仁靠近; 27. 雄性核仁与次生核仁开始融合; 28. 雄性核仁与次生核仁进一步融合; 29. 花后32小时初生胚乳核形成; 30. 初生胚乳核第一次分裂前期; 31. 初生胚乳核第一次分裂中期; 32. 花后33小时二游离胚乳核分裂中期; 33. 胚乳核无丝分裂。