

[文章编号] 1000-2782(2000)01-0016-05

## 核桃无融合生殖的细胞胚胎学研究

陈耀锋<sup>1</sup>, 郎少兰<sup>2</sup>, 高绍棠<sup>3</sup>, 高洋<sup>1</sup>

S664.101

S664.103

(1 西北农业大学农学系, 陕西杨陵 712100) (2 西安联合大学, 西安 710000)

(3 西北林学院, 陕西杨陵 712100)

**[摘要]** 用常规石蜡切片技术对核桃无融合生殖的胚胎发生进行了研究, 结果表明, 核桃为单子房直生胚珠, 成熟胚囊属典型的蓼型胚囊, 供试的 3 个核桃品种(系)无融合生殖胚由卵细胞发育而来, 属孤雌生殖类型。卵细胞自发分裂形成 2 细胞原胚、4 细胞原胚到多细胞球型原胚, 进一步发育为无融合生殖胚。两极核融合并分裂形成胚乳细胞, 助细胞和反足细胞在这一过程中退化。

**[关键词]** 核桃; 无融合生殖; 细胞胚胎学; 自发分裂; 孤雌生殖**[中图分类号]** S722 **[文献标识码]** A

无融合生殖是高等植物不经过精卵细胞融合而产生种子的一种特殊生殖方式。这种生殖方式有可能获得和母体植株相同的基因型个体或单倍体个体<sup>[1]</sup>, 因而受到遗传育种家的广泛关注。研究证明, 无融合生殖在许多植物中都有存在。柑桔类中的温州密柑、甜橙、葡萄柚、柠檬等主要品种的珠心细胞不定胚的大量形成使不定胚基本上和母体基因型相同<sup>[2]</sup>。水稻<sup>[3]</sup>、高粱<sup>[4,5]</sup>、苹果<sup>[6,7]</sup>等植物无融合生殖研究也有了一定的进展<sup>[8]</sup>。核桃无融合生殖研究已有一些报道<sup>[9,10]</sup>, 但还缺乏细胞胚胎学上的证据。1997~1999 年笔者对已发现的 3 个具有一定无融合生殖能力的核桃品种(系)<sup>[9]</sup>的无融合生殖进行了细胞胚胎学研究, 旨在搞清楚核桃无融合生殖的类型和特点, 为核桃无融合生殖的利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

**供试材料** 供试材料为西北林学院核桃试验园内具有一定无融合生殖能力的 3 个无性系品种(系): 西林 3 号、辽核 1 号和西扶 1 号。

**试验方法** 于 1997 和 1998 年 4 月, 供试核桃品种(系)雌花柱头刚刚显露时, 去掉雄花序, 选择母树外围发育良好的结果枝, 套袋隔离。于雌花柱头充分展开后, 分不同时间取样, 卡诺氏液(体积分数 95% 乙醇: 冰醋酸液 = 3 : 1)固定 12 h, 埃氏苏木精染色, 酒精系列脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋、切片, 显微镜观察并照像。

## 2 结果与分析

## 2.1 核桃子房结构与胚珠形态

核桃为单子房, 胚珠直生, 单珠被, 厚珠心, 具有很长的珠心喙(图版 1-1)。

**[收稿日期]** 1999-11-01**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(39670620)**[作者简介]** 陈耀锋(1956—), 男, 博士, 教授

## 2.2 核桃雌配子体的结构与类型

核桃雌配子体(胚囊)位于珠心上半部,较小,成熟胚囊具有1个卵细胞、2个助细胞、2个极核和3个反足细胞(图版 I-2,3,4),属蓼型胚囊。

## 2.3 核桃无融合生殖胚的形成和发育

切片观察表明,供试核桃3个品种(系)无融合生殖胚均由卵细胞发育而来,属孤雌生殖类型。雌配子体发育成熟后,卵细胞为长圆形,细胞核靠近上部,体积较大。助细胞存在于卵细胞两侧(图版 I-2),在进一步发育中,助细胞之一较早退化。3个反足细胞较大,位于合点端(图版 I-3),极核明显位于胚囊中间。无融合生殖胚囊中的卵细胞在短期休眠之后,即开始有丝分裂形成2个质地、大小一样的2细胞原胚(图版 I-5,6),2细胞原胚进一步发育可观察到4细胞原胚、8细胞原胚到球形原胚(图版 I-7,8;图版 II-9),在这一过程中反足细胞退化,能观察到退化的反足细胞痕迹(图版 II-9)。球形胚进一步发育形成无融合生殖多细胞胚结构(图版 I-10,11)。

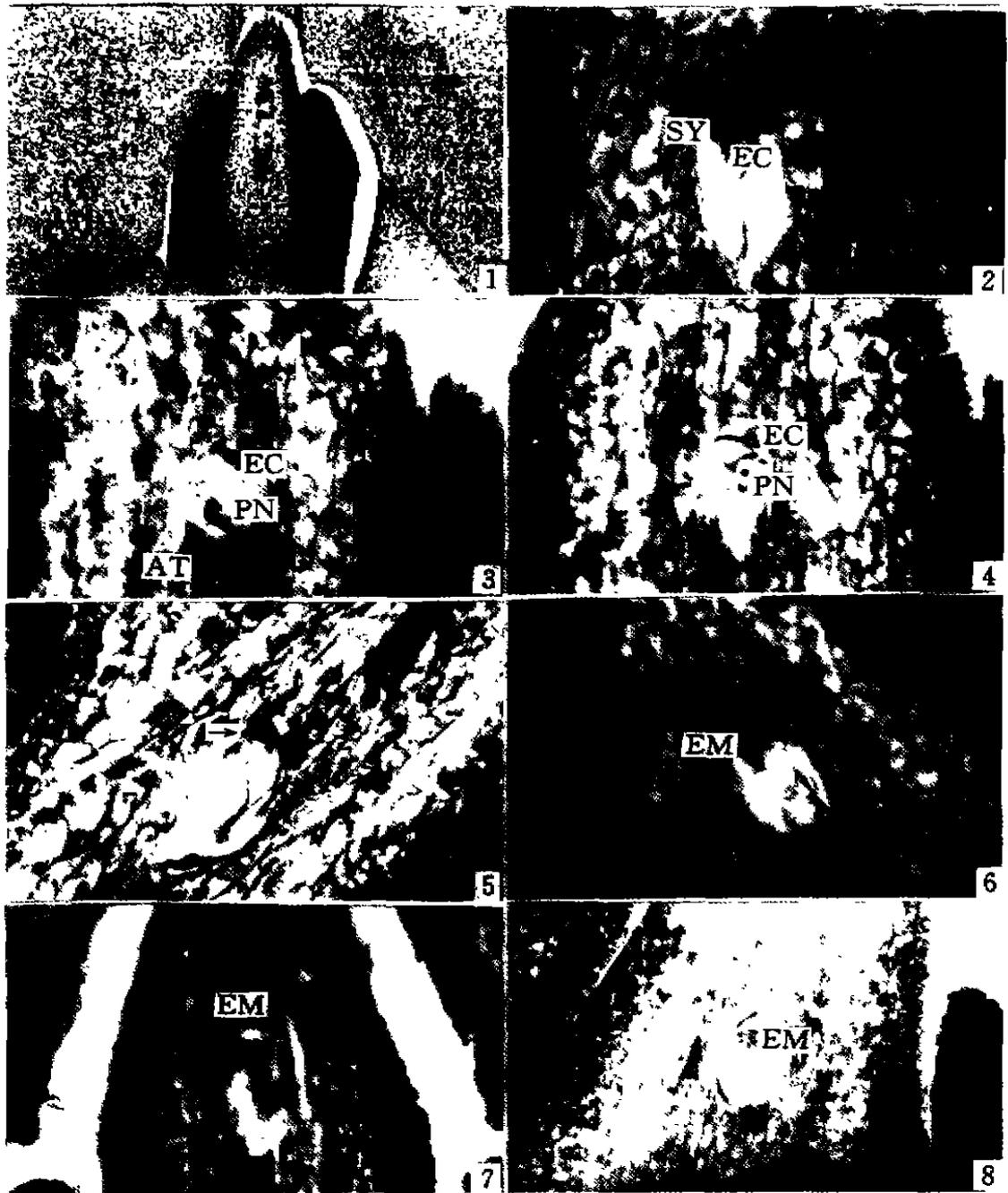
## 2.4 核桃无融合生殖胚乳细胞的形成和发育

被子植物有性生殖中,胚乳细胞由2个极核和1个精核融合发育而来。核桃3个品种(系)无融合生殖胚乳细胞形成来自于2个极核融合。切片研究表明,在卵细胞分裂前,2个极核靠拢,核膜消失,核质融合后,二核仁融合形成一个完整的胚乳母细胞(图版 I-12,13)。胚乳母细胞进行有丝分裂形成新的胚乳核,切片中观察到了1个和多个胚乳核正在分裂的现象(图版 I-14,15),后形成大量胚乳细胞(图版 II-16)。两极核融合的胚乳细胞出现在卵核发育的胚囊中,表明胚乳细胞在卵核发育中具有非常重要的作用。

## 3 结论与讨论

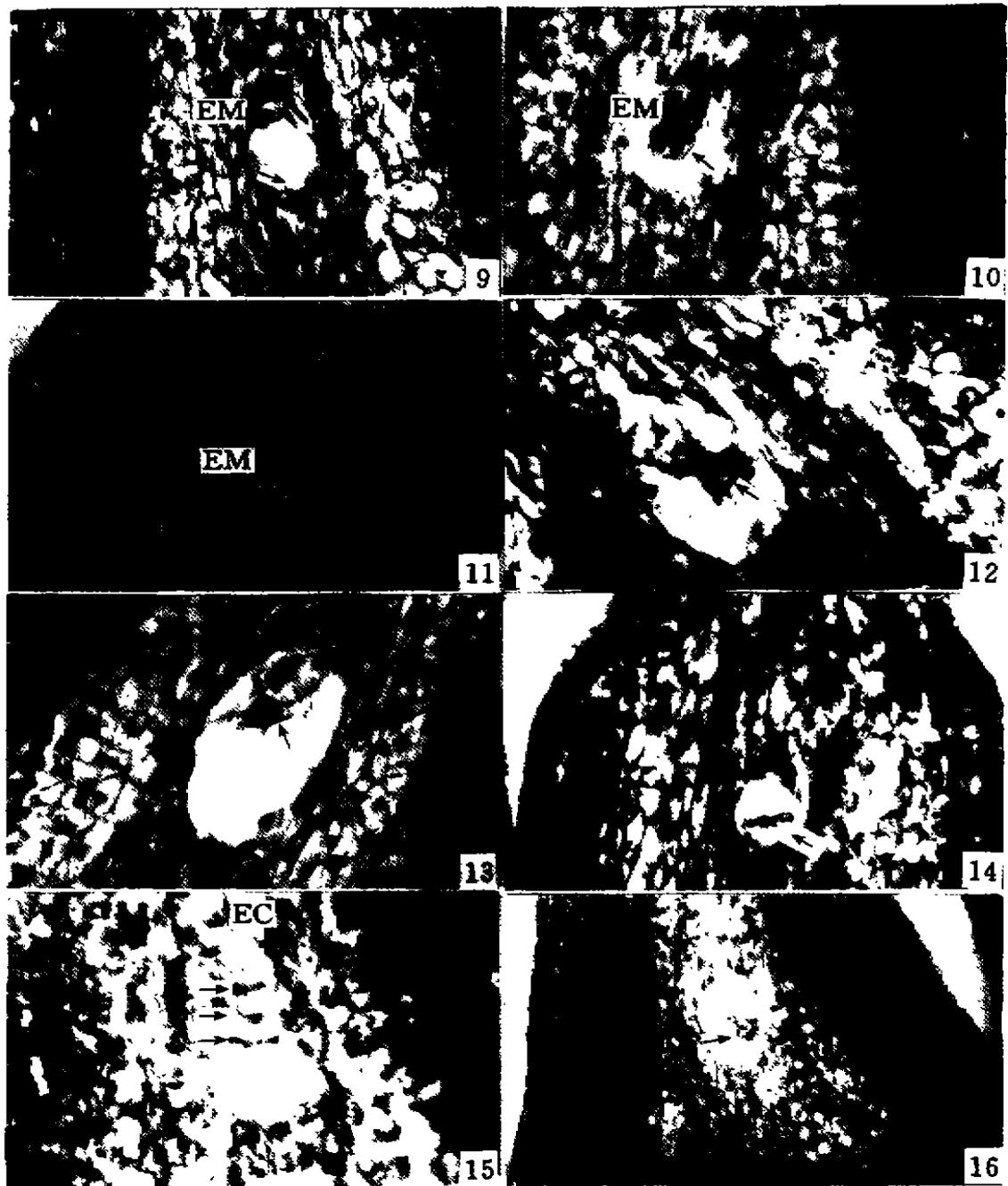
无融合生殖的类型很多,它包括在减数胚囊中的无融合生殖和未减数胚囊中的无融合生殖、不定胚生殖。柑桔类大多数具无融合生殖的品种大都通过珠心细胞不定胚生殖<sup>[2]</sup>。三倍体湖北海棠进行孤雌生殖,但胚囊来自于其他细胞而不是大孢子母细胞<sup>[11]</sup>,高粱 SSA-1 的无融合生殖分为无孢子生殖和二倍体孢子生殖2种类型<sup>[9]</sup>。本研究中供试的3个核桃品种(系)均有发育典型的八核蓼型胚囊,无融合生殖在3个品种中毫无例外的来自于卵细胞,属孤雌生殖类型。卵细胞在发育和分裂前后助细胞、反足细胞的解体和正常受精后的表现是一致的,能获得正常的胚和果实,这和已报道<sup>[9]</sup>的3个品种在田间表现无融合结籽现象是一致的。

无融合水稻要获得发育良好的胚乳比较困难,因为极核分裂困难<sup>[12]</sup>。但在多胚水稻品系 SB-1 的助细胞无融合生殖中,观察到了极少数中央细胞未经受精自发产生胚乳的现象<sup>[13]</sup>。高粱 SSA-1 无融合生殖胚乳由两极核融合后受精或不受精发育而来,在未授粉的材料中,发现有10%的胚乳能够发育<sup>[4]</sup>。本研究具有一定无融合生殖能力的3个核桃品系在严格取雄套袋后,切片证明了两极核的融合及融合后的胚乳细胞的分裂,并同时观察到多个胚乳核同时分裂的现象。在所有无融合生殖胚囊中都存在着游离的胚乳核,这表明,核桃无融合生殖胚乳主要来自于二极核融合。这种融合所产生的胚乳细胞在无融合生殖胚的发育中是重要的。



图版 1

1. 核桃胚珠和胚囊纵切面,  $\times 75$ ; 2. 未授粉胚囊, 示卵细胞(EC)和助细胞(SY),  $\times 800$ ; 3. 未授粉胚囊, 示卵细胞(EC)、2个极核(PN)和3个反足细胞(AT),  $\times 800$ ; 4. 未授粉胚囊, 示卵细胞(EC)和2个极核(PN),  $\times 800$ ; 5. 未授粉胚囊, 示正在分裂的卵细胞(↑)和胚乳细胞,  $\times 800$ ; 6. 未授粉胚囊, 示由卵细胞分裂的2细胞原胚(EM),  $\times 550$ ; 7. 未授粉胚囊, 示由卵细胞分裂形成的4细胞原胚(EM),  $\times 550$ ; 8. 未授粉胚囊, 示由卵细胞分裂形成的8细胞原胚(EM),  $\times 550$



图版 I

9. 未授粉胚囊. 示由卵细胞发育的球型胚和退化的反足细胞痕迹,  $\times 800$ ; 10. 卵细胞原胚的细胞分裂( $\uparrow$ ),  $\times 800$ ;  
 11. 发育中的卵细胞胚,  $\times 550$ ; 12. 未授粉胚囊, 示两极核靠近( $\uparrow$ ),  $\times 800$ ; 13. 未授粉胚囊, 示两极核融合( $\uparrow$ ),  $\times 800$ ;  
 14. 两极核融合的胚乳细胞第一次分裂( $\uparrow$ ),  $\times 800$ ; 15. 未授粉胚囊, 示 3 个胚乳细胞同时分裂( $\uparrow$ ),  $\times 800$ ; 16. 未授粉  
 胚囊, 示多个胚乳细胞( $\uparrow$ ),  $\times 350$

## [参考文献]

- [1] 李平,陈放,周桂梅.无融合生殖在育种中的应用及细胞胚胎学研究[J].四川大学学报(自然科学版),1992,29(2):288~293.
- [2] 赖来展.作物单性(孤雌)生殖育种研究进展[J].广东农业科学,1981,4:10~16.
- [3] 蔡得田.水稻无融合生殖研究进展[J].华中农业大学学报,1992,11(1):15~20.
- [4] 吴树彪,尚勇进,韩雪梅,等.高粱 SSA-I 无融合生殖胚胎学研究[J].植物学报,1994,36(11):833~837.
- [5] Murty U R, Kiti P B, Bharathi M, et al. The nature of apomixis and its utilization in the production of hybrids in *Sorghum bicolor* L. [J]. Moench Z Pflanzenzucht, 1983, 95: 113~117.
- [6] Schmidt H. Criteria and procedures for evaluating apomictic rootstocks for apple[J]. Hortscience, 1988, 23(1): 104~106.
- [7] 董文轩,景士西,宣景宏.苹果属植物无融合生殖特性文献综述[J].园艺学报,1996,23(4):343~348.
- [8] Hanna W W, Bashaw E C. Apomixis, Its identification and use in plant breeding[J]. Crop Sci, 1987, 27: 1136~1139.
- [9] 高绍棠,刘朝斌,刘杜玲,等.核桃无融合生殖研究初报[J].西北林学院学报,1999,14(1):45~47.
- [10] 中国农林科学院科技情报研究所.国外核桃生产概况[J].国外林业科技资料,1976,(7):1~50.
- [11] Derman H. Aposporic parthenogenesis in a triploid apple, *Malus hupehensis* [J]. Journal of the Arnold Arboretum, 1936, 17: 90~105.
- [12] 周 嫦,杨弘远.水稻的未传粉子房培养[J].武汉大学学报,1982,42(4):146~154.
- [13] 刘永胜,孙敬三,王伏雄.多胚水稻品系 SB-1 的细胞胚胎学研究:助细胞无配子生殖[J].植物学报,1994,36(11):828~832.

## A cytoembryological study on apomixis in walnut (*Juglans regia* L.)

CHEN Yao-feng<sup>1</sup>, LANG Shao-lan<sup>2</sup>,  
GAO Shao-tang<sup>3</sup>, GAO Yang<sup>1</sup>

(1 Department of Agronomy, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

(2 Xi'an United University, Xi'an, Shaanxi 710000, China)

(3 Northwestern Forestry College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The developmental process of apomictic embryo in three walnut (*Juglans regia* L.) varieties was observed under light microscope, using the method of conventional paraffin sectioning. The result showed that there was an ovule in the female flower of walnut and the embryo sac of walnut was a typical eight-nuclei *Polygonum* embryo sac including an egg, two synergids, two polar nuclei and three antipodals. Apomictic embryos of three walnut varieties came from non-fertilized egg cell in the mature embryo sac and they belonged to parthenogenesis of egg cell. The egg cell divided autonomously formed two cell primary embryos, multiple cell primary embryos, and globular embryo to mature embryo. The endosperm cell was formed by two polar nuclei fusion and division. Two synergids and three antipodals were aborted in the developing process of egg cell and endosperm cells.

**Key words:** walnut (*Juglans regia* L.); apomixis; cytoembryology; divided autonomously; parthenogenesis