

170-173

5156(14)

广西植物 *Guihaia* 13(2): 170-173. May 1993

沙田柚雌雄蕊发育及其相关性研究

薛妙男 张莹

麦适秋 欧善汉

(广西师范大学生物系, 桂林541004)

(广西柑桔研究所, 桂林)

5666.301

摘要 沙田柚为倒生胚珠。双珠被, 厚珠心, 具多个孢原细胞, 其中之一发育形成大孢子母细胞, 四个大孢子呈直线形排列, 功能大孢子居合点端, 胚囊发育为蓼型, 珠孔端有珠心冠。

花药为四分孢子囊, 小孢子母细胞减数分裂过程中, 胞质分裂为同时型, 四分小孢子四面体型, 成熟花粉粒为二细胞型。

同一朵花中, 雌雄蕊发育的相关性是: 当大孢子母细胞形成时, 小孢子进入单核期。当雌蕊发育进入大孢子时期, 双核花粉粒形成。大孢子和双核花粉粒都在开花前10天左右形成, 雌雄蕊同时成熟。

关键词 沙田柚; 雌雄蕊发育; 相关性

此雄蕊, 雄蕊, 发育

A STUDY OF THE DEVELOPMENT OF STAMENS AND PISTILS AND THEIR CORRELATION OF SHATINYU

Xue Miaonan and Zhang Ying

(Biological Department, Guangxi Teachers University, Guilin, 541004)

Mai Shiqi and Ou Shanhan

(Citrus Research Institute of Guangxi, Guilin 541004)

Abstract The ovule of Shatinyu (*Citrus grandis* var. *shatinyu* Hort.) was anatropous, bitegmineous and crassinucellate. It contained many archesporial cells, one of them would develop into megasporocyte. The four megaspore arranged in a line, and the functional megaspore was at the chalazal. The embryo sac developed into the Polygonum type. There was a nucellus cap in the tip of micropyle.

The anther was tetralocular. During the meiosis of the microspore mother cell, the cytokinesis was at the same time. The microspore tetrad was tetrahedron. The matured pollen grain was of two-cell type.

In the same flower, the corresponding development of the stamens and pistil was observed. When the megasporocyte forming, the microspore was at the uninucleate stage. The megaspore and binucleate pollen grain formed in ten days before flowering when a number of nutrient had been accumulated in the pollen grain. The megaspore continues developing into the Polygonum type embryo sac. Therefore the stamens and pistils matured simultaneously.

Key words Shatinyu (*Citrus grandis* var. *shatinyu* Hort.), development of the stamens and pistils.

沙田柚原产广西容县沙田村,为广西名优果品,驰名中外,基于发展广西沙田柚生产的需要,作者近年来对沙田柚小孢子发生及雄配子体形成物候学进行了探讨^[6],在此基础上,对沙田柚大孢子发生及雌配子体形成和雌雄蕊发育的相关性进行研究,并将它与外部形态相联系,为提高沙田柚栽培育种水平提供理论依据,并探讨沙田柚自交不亲和性和授粉至受精间隔期长的特性与雌雄蕊发育之间的关系。

材 料 和 方 法

供试材料取自广西柑桔研究所的8—10年生酸砧沙田柚结果树,从1989—1990二年度中,每年从3月中下旬(现蕾)开始至4月下旬开花期止,每天采集一次,每次三个花序,用卡诺氏液固定24小时,换至70%酒精中保存,用压片法和5:1丙酸洋红:丙酸苏木精混合液进行染色观察,确定小孢子发生及雄配子体形成各发育阶段形态指标,在同一朵花中,取出雌蕊中的子房,进行石蜡切片,苏木精固绿染色观察下孢子发生及雌配子体的形成,切片厚8—12 μm olympus光学显微镜观察和摄影。

观 察 结 果

一、大孢子的发生(4月1日—4月19日)

1. 胚珠原基—大孢子母细胞产生(4月1日—4月13日)

沙田柚的胚珠原基从子房壁上隆起时,可见珠心表皮下有一群核大、质浓的细胞,即孢原细胞(图版I:1、2),由这一群细胞和珠心表皮细胞进行分裂,使珠心迅速扩大伸长(图版I:3、4),当内外珠被原基突起时,珠心表皮下第三或第四层仍可见到多个孢原细胞,其中之一发育成大孢子母细胞(图版I:4、5、6),在大孢子母细胞的周围仍可见到正在分裂的孢原细胞(图版I:4),可见,沙田柚大孢子母细胞起源于多个孢原细胞。厚珠心主要由珠心表皮和孢原细胞分裂形成。在此期间内,小孢子母细胞进行减数分裂直至形成单核花粉粒(图版II:1—9)。

2. 大孢子母细胞减数分裂—大孢子的形成(4月13日—4月18日)

大孢子母细胞长大进行减数分裂的第一次分裂形成二分体(图版I:7),紧接着进行减数分裂第二次分裂形成线形四分体(图版I:8),内外珠被在此期内迅速伸长,与珠心等长或超过。与此同时,小孢子发育经单核靠边和有丝分裂形成二细胞花粉粒(图版II:10—14)。

在少数胚珠中,可见到两个大孢子母细胞进行减数分裂形成二分体(图版I:11),由于不同步,其中一个已形成二分体,另一个还处在减数分裂第一次分裂的后期。

二、雌配子体的形成(4月18日—4月27日)

1. 大孢子—单核胚囊(4月18日—4月22日)

线形四分体中,珠孔端的三个大孢子相继退化,靠合点端大孢子继续发育,向珠心端延伸,并通过液泡化增加体积,形成单核胚囊(图版I:9、10),此期的内外珠被即将合拢。与此同时,花粉粒中的生殖细胞脱离花粉壁,游离于营养细胞的胞质中,生殖细胞由梭形变成球形(图版II:14、15),并开始积累营养物质,压片观察时,可清晰看到花粉粒中的生殖和营养细胞(图版II:16)。

2. 单核胚囊—成熟胚囊 (4月22日—4月27日)

单核胚囊有丝分裂形成二核胚囊 (图版 I : 12), 围绕在胚囊周围的珠心细胞被挤压解体 (图版 I : 12—13), 而靠近珠孔端的珠心细胞中已存积多糖颗粒, 核解体, 壁胼胝质化加厚 (图版 I : 14)。

二核胚囊有丝分裂形成四核胚囊, 两个核位于胚囊合点端, 另两核位于珠孔端, 胚囊中央为大液泡占据 (图版 I : 15), 在少数胚珠中, 可见到两个处在四核期的胚囊 (图版 I : 16)。

四核胚囊中的四个核分别进行一次有丝分裂形成八核胚囊 (图版 II : 19), 随后发生胞质分裂分化出细胞, 珠孔端的四个细胞形成卵器和上极核, 合点端四个细胞形成反足细胞和下极核 (图版 II : 20), 而极核与卵器靠近。沙田柚的胚囊发育为蓼型, 内外珠被完全合拢, 形成珠孔。

成熟胚囊阶段, 在靠近珠孔端的珠心细胞壁明显增厚, 有机物进一步积累, 经PAS反应确定细胞中含大量多糖颗粒, 经苯胺兰染色, 荧光显微镜观察, 发出强烈荧光, 说明细胞壁主要积累胼胝质 (图版 II : 21), 与此同时, 双核花粉粒主要积累营养物质, 雌蕊发育阶段和持续时间和形态指标见表 1。

三、雌雄蕊发育的相关性

同一朵花中, 雄蕊发育先于雌蕊发育, 当胚珠中珠心细胞分化出大孢子母细胞时, 小孢子母细胞减数分裂完成, 并形成单核花粉粒。在单核花粉粒细胞进行有丝分裂形成双核花粉粒的同时, 大孢子母细胞减数分裂形成大孢子。二年观察表明, 双核花粉粒和大孢子的形成几乎是同时的, 在开花前10天左右完成。

开花前10天左右的双核花粉粒, 由于有机物积累很少, 在压片观察时, 很容易看到双核花粉粒, 但到即将开花时的成熟花粉粒, 压片染色观察, 很难看到细胞核, 必须将花粉破壁, 用水合三氯乙醛溶解细胞中的有机物, 将原生质体从花粉壁中压出来后, 还得进行重压, 才能隐约见到两个细胞核 (图版 II : 17, 18), 可见在这10天中, 沙田柚双核花粉粒必须积累大量有机物, 才能进入成熟开花阶段。与此同时, 大孢子发育, 经单核、二核、四核到形成成熟的蓼型胚囊, 由于双核花粉粒的营养物的积累和单核胚囊中的三次有丝分裂是同步进行, 所以开花时, 雌雄蕊是同时成熟的, 雌雄蕊发育及它们之间的相关性见表 2。

表1 雌蕊各发育阶段持续时间和形态指标

发育阶段	持续时间 (月:日)	子房		内珠被	外珠被	天数
		长度 (mm)	横径 (mm)			
胚珠原基	4:1-5	1-1.5	1-1.5	无	无	5
孢原细胞	4:5-9	1-2	1.5-2	无	无	4
大孢子母细胞	4:9-13	2-3	1.5-3	原基形成	原基形成	4
减数分裂	4:13-18	3-4	2-3	与珠心等长	包围珠心	5
大孢子	4:18-22	5-8	5-4	超过珠心 逐渐合拢	已合拢	4
单核—成熟胚囊	4:22-27	5-11	5-8	内外珠被共同形成珠孔		5

表2 雌雄蕊发育的相关性

花药长度 (mm)	雄蕊发育期	持续时间 月:日	雌蕊发育期	持续时间 月:日
0.1—0.5	孢原细胞	3:22—3:27	未分化	3:23—3:27
0.5—1.5	造孢细胞	3:27—4:1	未分化	3:27—4:1
1.5—2.8	小孢子母细胞	4:1—4:5	胚珠原基	4:1—4:5
2.8—3.5	减数分裂	4:5—4:9	孢原细胞	4:5—4:9
3—4.5	单核花粉粒	4:9—4:13	大孢子母细胞	4:9—4:13
4.5—5.5	双核花粉粒	4:13—4:18	减数分裂	4:13—4:18
5.1—7	成熟双核花粉	4:18—4:27	单核胚囊— 成熟胚囊	4:18—4:27
合计天数		34		27

讨 论

1. 柑桔类大孢子母细胞的起源, Baccha和Banerji曾对葡萄柚和酸橙的大孢子发生及配子体的形成进行研究, 都没有涉及到大孢子母细胞的起源。傅文吾等对本地早品种胚珠发育研究中发现该品种的大孢子母细胞起源于多个孢原细胞, 白志川等在梁平柚胚胎研究中, 有观察到多孢原现象, 认为大孢子母细胞起源于珠心表皮第三层细胞, 厚珠心形成主要由周缘细胞分裂的结果, 但都缺乏照片资料, 我们对沙田柚多孢原现象作了较详细研究, 实验结果证明: 沙田柚大孢子母细胞起源于多个孢原细胞, 其中之一发育成大孢子母细胞, 厚珠心是由珠心表皮细胞和多个孢原细胞分裂形成, 多孢原现象在柑桔类果树中是否有普遍意义, 与柑桔类不定多胚产生之间的关系如何, 有待进一步研究。

2. 沙田柚珠心冠的产生和作用

在二核胚囊阶段, 可以看到胚囊周围的珠心细胞解体, 而在珠孔端的珠心冠原细胞中却积累大量多糖类物质, 壁增厚并胼胝质化, 胞质液泡化, 核解体, 到成熟胚囊阶段, 已形成珠心冠, 呈帽状结构盖着胚囊的顶端, 经苯胺兰染色, 细胞壁发出强烈荧光, 经PAS染色细胞中含有大量多糖物质。这种珠心冠细胞是从珠心表皮起源, 它可能有分泌某种酶和激素, 有利花粉管通过珠心进入胚囊, 并对营养物质的运输利用和分配起作用。

3. 在少数胚珠中, 能看到两个大孢子母细胞进行减数分裂现象, 还能看到同一胚珠中有两个四核胚囊, 但最终只有一个继续发育, 所以沙田柚种子单胚率几乎达100%。

4. 通过对沙田柚雌雄蕊发育相关性研究表明, 雌雄蕊是同时成熟的, 所以沙田柚自交不亲和及授粉至受精间隔期长, 不是由于雌雄蕊不同时成熟而引起的。

5. 二年观察表明, 沙田柚双核花粉粒和大孢子形成期几乎是同时的, 一般在开花前10天左右。在这十天内, 单核胚囊进行3次有丝分裂形成成熟胚囊, 双核花粉粒积累营养物质, 因此, 施花前肥, 促进早开花, 防止落花落果将产生更大的经济效益。

参 考 文 献

- [1] Bacchi, O., 1943: Cytological observation S. III megasporogenesis, fertilization and polyembryony. Bot. Gaz. 105: 221—225.
- [2] Banerji, L., 1954: Morphological and cytological studies on citrus grandis asbeck. Phytomorphology 4: 390—396.
- [3] 周碧英、王元裕, 1981年: 多胚性柑桔的胚胎发育。广西植物, 1(1:4): 47—49.
- [4] 傅文吾, 姚季馨, 1981: 柑桔胚胎发育与果实生长的形态解剖观察。华中农学院学报(1): 35—48.
- [5] 白志川, 1989: 梁平柚的胚胎学研究。西南农业大学学报, 11(8): 288—291.
- [6] 薛妙男、陈腾工, 1985: 沙田柚小孢子发生及花粉发育的形态学及物候学研究。广西师范大学学报, 1: 49—52.

图 版 说 明

图版 I 1—2, 珠心表皮下的多个孢原细胞(箭头所示)。3—4, 孢原细胞(箭头所示)和珠心表皮细胞正在分裂。4—5, 多个孢原细胞中的一个发育成大孢子母细胞(箭头所示)。6, 大孢子母细胞长大。7, 二分体, 8, 线形四分体, 功能大孢子居合点端。9、10, 功能大孢子长大并液泡化形成单核胚囊。11, 两个大孢子母细胞进行减数分裂, 其中之一形成二分体, 另一个还处在分裂后期。12、13, 二核胚囊时期, 胚囊周围珠心细胞大量解体。14, 珠心冠原细胞核解体, 壁加厚, 细胞中积累有机物。15, 四核胚囊。16, 同一胚珠中的两个四核胚囊。

图版 II 1—8, 小孢子母细胞减数分裂: 1, 间期。2, 前期。3, 中期 I。4, 后期 I。5, 二分体。6, 7, 四分体。8, 单核小孢子。9, 单核正中花粉粒。10, 单核靠边花粉粒。11—14, 单核花粉分裂形成二核花粉粒。15、16, 二细胞花粉。17、18, 成熟花粉粒。19, 八核胚囊。20, 卵器和极核。21, 盖在胚囊顶端的珠心冠细胞。22, 具胼胝质壁的珠心冠细胞。23, 花粉管通过珠心冠细胞进入胚囊。