

海桐大、小孢子发育及雌、雄配子体形成的研究

刘久东¹, 徐涛³, 和兆荣³, 周厚高^{2*}, 王欧³

(1. 云南科技信息职业学院, 昆明 650224; 2. 仲恺农业技术学院, 广州 510225; 3. 云南大学 生命科学学院, 昆明 650091)

摘要: 利用常规石蜡制片法研究了海桐大、小孢子发生及雌、雄配子体发育的过程。结果显示:(1)小孢子母细胞减数分裂过程中的胞质分裂为连续型,四分孢子为以四面体形为主,四分孢子后期部分小孢子壁皱缩;(2)花药壁由4层结构组成,由外到内为表皮、药室内壁、中层和绒毡层;(3)海桐具多个胚珠,单珠被,薄珠心,胚珠类型为倒生胚珠。大孢子母细胞减数分裂主要形成线形排列的4个大孢子,还具有少有的十字形排列,功能大孢子位于合点端;(4)胚囊发育属单孢型的蓼型,成熟的雌配子体为四细胞五核胚囊。

关键词: 海桐; 大孢子发生; 小孢子发生; 雄配子体; 雌配子体

中图分类号: Q944.58 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)01-0020-04

Megasporogenesis and microsporogenesis as well as male and female gametophyte development of *Pittosporum tobira*

LIU Jiu-Dong¹, XU Tao³, HE Zhao-Rong³, ZHOU Hou-Gao^{2*}, WANG Ou³

(1. Yunnan Institute of Technology and Information, Kunming 650224, China; 2. Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225, China; 3. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: This paper describes megalosporogenesis and microsporogenesis as well as male and female gametophyte development of *Pittosporum tobira* (Thunb.) Ait. by using normal paraffin method. The results are as follows: (1) cytokinesis in the process of meiotic division of microsporocyte is successive type, the main arrangement of microspores tetrad is tetrahedral, and wall of some microspores are shriveled at the last stage of microspores tetrad; (2) the anther wall is composed of 4 layers, which are epidermis, endothecium, middle layer and tapetum; (3) an ovary locules has many ovules, which are unitegmic, tenuinucellate and anatropous. Four megaspores divided from megasporocyte arrange in line during tetrad period, and some in decussate, the chalazal megaspore is functional; (4) the development of embryo sac was polygonum type which belongs to the bisporic embryo sac. Most mature embryo sac are 5-nucleated embryo sac which the 5 nuclei belong to 4 cells.

Key words: *Pittosporum tobira*; megalosporogenesis; microsporogenesis; male gametophyte; female gametophyte

海桐 (*Pittosporum tobira*) 又名花镜、山瑞香, 为海桐花科海桐花属的常绿灌木, 多分布于长江以南滨海各省。海桐不仅枝叶稠密、树型美观, 而且其适应范围广, 是绿化和园林造景的优良材料, 现已广泛应用。目前关于海桐的研究主要集中于抗性 (蒋蓉芳等, 2000)、生理生化 (温达志等, 2003; 高厚强

等, 2003; 方志伟, 2003; 费引海等, 2005; 薛立等, 2003; Loukis 等, 2005; 胡文海等, 2005, 2006) 及栽培 (刘香芬, 1999) 等方面。而对于胚胎学研究一直以来未见有报道。本文旨在观察研究海桐大、小孢子的发生和雌、雄配子体的发育规律, 以期为深入探讨海桐的栽培和繁殖生物学问题提供理论基础。

收稿日期: 2006-07-11 修回日期: 2006-12-20

作者简介: 刘久东 (1982-), 男, 江苏仪征市人, 助教, 硕士, 主要研究方向为园艺花卉。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: zhouhougao@163.com)

1 材料与方 法

材料取自云南大学校园、西双版纳植物园昆明分部及翠湖公园等处 20 株左右的海桐植株上,在 2002~2004 年每年的 2~5 月,采集不同发育阶段的花蕾,用 FAA 溶液(60%乙醇:冰乙酸:甲醛=90:5:5)固定。

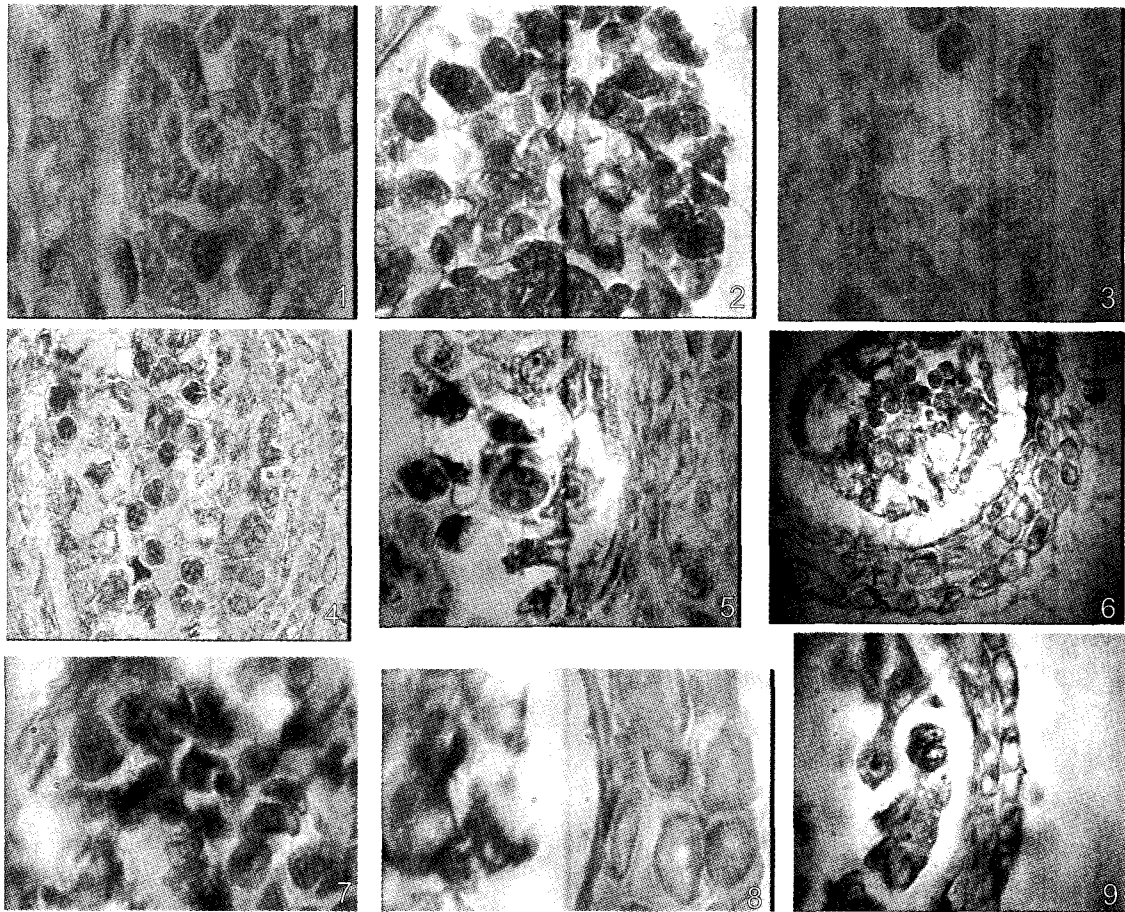
固定的材料用 60%的酒精冲洗,经 4 个不同梯度的酒精脱水,再经 4 个不同浓度的二甲苯透明,最后经过 3 梯度的石蜡浸蜡,包埋后常规石蜡切片法

制片,切片厚度为 8~9 nm,番红-固绿溶液染色,OlympusBH-2 显微镜观察并摄影。

2 观察结果

2.1 小孢子发生及雄配子体发育

2.1.1 小孢子发生 在海桐早期花药的横切面上,孢原细胞发育为造孢细胞(图版 I:1),孢原细胞再发育小孢子母细胞(图版 I:2)。小孢子母细胞经减数分裂形成二分体(图版 I:3),胞质分裂为连续型。二分体再分裂成四分体,四分体排列方式主要为四



图版 I 1. 造孢细胞($\times 400$); 2. 小孢子母细胞($\times 400$); 3. 二分体($\times 400$); 4. 四面体型四分体($\times 200$); 5. 十字型四分体($\times 400$); 6. 四分体后期、部分中层的外层解体($\times 200$); 7. 皱缩的小孢子($\times 400$); 8. 中层的内层退化($\times 400$); 9. 外层退化($\times 200$)。

Plate I 1. Sporogenous cell($\times 400$); 2. Microspore mother cells($\times 400$); 3. Dyad($\times 400$); 4. Tetrahedral microspore tetrad($\times 200$); 5. Decussate microspore tetrad($\times 400$); 6. Last stage of microspore tetrad, part of outer middle layer degenerated($\times 200$); 7. Shriveled microspore($\times 400$); 8. Inner middle layer degenerated($\times 400$); 9. Outer middle layer degenerated($\times 200$).

面体形(图版 I:4),也有十字形四分体(图版 I:5)。2.1.2 雄配子体发育 从四分体刚释放出的小孢子细胞核开始位于中央(图版 I:6),细胞质中无明显液泡,部分小孢子壁的皱缩现象明显(图版 I:7)。随着其胞质发生液泡化,小孢子体积增大,壁逐渐加

厚,细胞核的位置也由中央移到边缘,形成单核靠边期小孢子,继而形成成熟花粉。

2.2 花药壁的发育

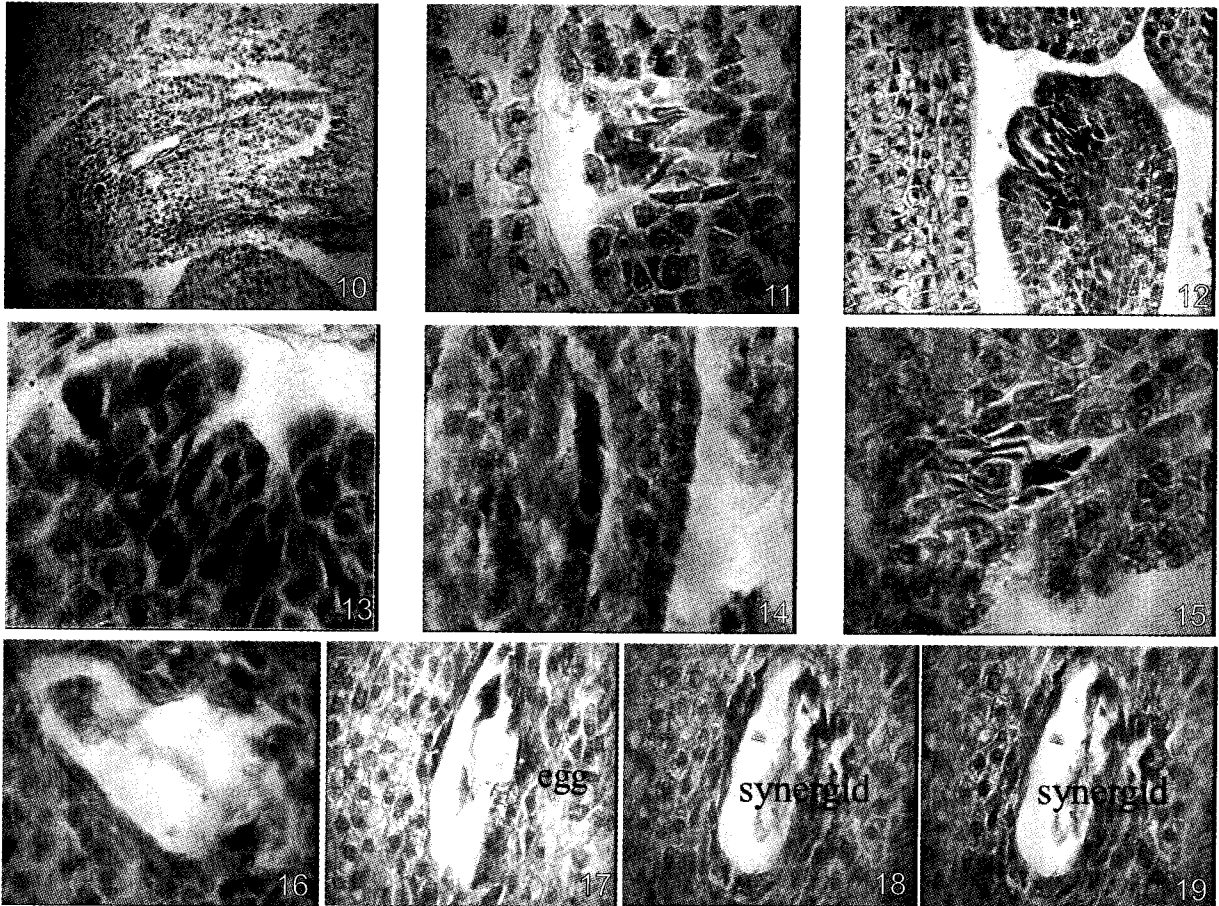
孢原细胞时期,次生造孢细胞时期花药壁初步分化为四层结构,即表皮、药室内壁、没有完全发育

的2层中层细胞和绒毡层。绒毡层多为单核细胞。小孢子母细胞时期绒毡层细胞体积增大并液泡化,细胞核多为2~3核结构。中层细胞还未出现分化和解体。从小孢子母细胞减数分裂至四分体阶段中层的内层开始解体变为带状结构(图版 I :8),四分体后期内层消失,部分外层开始解体(图版 I :6),单

核靠边期小孢子时期,外层解体变为带状结构(图版 I :9),室内壁细胞开始径向延长并液泡化。

2.3 大孢子发生和雌配子体发育

2.3.1 大孢子发生 海桐的倒生胚珠(图版 II :10)的孢原细胞从珠心表皮下方分化出来后分裂形成周缘细胞和造孢细胞。造孢细胞直接发育为大孢子母



图版 II 10. 倒生胚珠($\times 100$); 11. 大孢子母细胞时期($\times 400$); 12. 单珠被、薄珠心的胚珠($\times 200$); 13. 二分体($\times 400$); 14. 线形四分体($\times 400$); 15. 十字形排列四分体后期的功能大孢子($\times 400$); 16. 近珠孔端的四个核($\times 200$); 17-18. 两张连续切片示卵器($\times 200$); 19. 次生核($\times 200$).

Plate II 10. Anatropous ovule($\times 100$); 11. Megasporocyte($\times 400$); 12. Unitegmic and tenuinucellate ovule($\times 200$); 13. Dyad($\times 400$); 14. Linear megaspore tetrad($\times 400$); 15. Functional megaspore of last stage of decussate megaspore tetrad($\times 400$); 16. Four nuclei which near micropyle($\times 200$); 17-18. Three successive sections. Showing egg apparatus($\times 200$); 19. Secondary nucleus($\times 200$).

细胞(图版 II :11)。周缘细胞经垂周和平周分裂从而使大孢子母细胞位于珠心顶端1层细胞之下,形成薄珠心型胚珠,珠被类型为单珠被(图版 II :12)。大孢子母细胞减数分裂时,在第一次分裂时即出现细胞壁,形成二分体(图版 II :13)。在二分体中只两个细胞都进行第二次减数分裂,形成的四分体,主要为直线形排列(图版 II :14),少有十字形排列。合点端的细胞为其功能细胞(图版 II :15,为十字形排列四分体后期功能大孢子)。分裂后不形成壁,两个大孢子核共同参与胚囊的形成。

2.3.2 雌配子体发育 功能大孢子液泡化且体积增大。每一大孢子核进行两次有丝分裂,经四核胚囊发育成八核胚囊。八核胚囊中近珠孔端的四个单倍体核(图版 II :16),其中三个形成细胞组成卵器(图版 II :17,18 两张连续切片示卵器),在珠孔端可以看到在空间上呈倒“品”字形排列,其中稍大而宽的是一个卵细胞;另一个单倍体核和来自合点端的一个单倍体核,组成含两个极核的中央细胞,形成七细胞八核胚囊。七细胞八核胚囊中的三个反足细胞大多退化,而形成四细胞五核的胚囊。有时这种胚囊

的中央细胞的上下极核又融合为次生核(图版 II: 19),位于卵细胞的下方,以原生质索与卵器相连,使四细胞五核胚囊发展为四细胞四核的成熟胚囊。

3 讨论

3.1 海桐小孢子发生的特点

小孢子四分体排列方式有两种,以四面体形为主,兼有十字形。在单核小孢子时期,观察到有许多小孢子壁产生皱缩的现象,皱缩的小孢子将导致大量花粉不育,这现象与《中国植物志》中其形态特征的雄蕊具有退化雄蕊(张宏达等,1979)这一特点相吻合,结合上文提及的蒋蓉芳等(2000)、温达志等(2003)、高厚强等(2003)、方志伟(2003)多人做的抗性研究,推测其是通过自身减少花粉的数量,来提高整体花粉的质量,进而形成的受精卵质量就会相对较高,从而得到质量相对较高的种子,对后代适应环境能力的提高有所帮助。而小孢子壁产生皱缩的现象原因,可能是花粉母细胞不能正常进行减数分裂,也可能是绒毡层细胞没有起到预期的作用,具体机制有待进一步深入研究。

3.2 海桐花药壁发育的特点

花药壁在次生造孢时期就已分化出四壁的结构,即:表皮层,药室内壁,中层和绒毡层。随着小孢子母细胞的发育,减数分裂的进行及雄配子体的形成和发育,各层壁结构均产生不同程度的变化。中层和绒毡层逐渐被吸收和解体,到花粉成熟时,中层已消失,而绒毡层仅留下部分残迹。

3.3 海桐大孢子发生及雌配子体发育的特点

单珠被,薄珠心的类型为一种进化的类型(胡适宜,1982),而海桐刚好具有这一特点说明了海桐是相对进化的一种植物。其在大孢子时期出现珠心核即由珠心细胞发育而成的核状结构,其珠心的营养被胚囊所吸收。其胚囊发育类型是典型的单孢型,且是单孢型中的蓼型发育方式(胡适宜,1982),即合点端的大孢子为其功能细胞。大孢子四分体排列方式有两种,除了以线形排列方式为主之外,很少部分还排列成罕见的十字形(图版 II:15 中显示的四分体后期),可能是由于环境因子变化而导致,推测是由于二分体后期,两个细胞不是进行垂直或横向分裂,而是进行斜向分裂造成的。在胚囊发育过程的观察中,有时可见到三核及七核的胚囊,是由于核分

裂不同步造成的。成熟胚囊多为五核,是由于反足细胞退化。部分胚囊还可为四核,因中央细胞的上下极核已融合为次生核。

参考文献:

- 刘香芬. 1999. 海桐的盆栽技术[J]. 中国林副特产, (3):26
- 张宏达, 颜素珠. 1979. 中国植物志(35 卷第 2 分册)[M]. 北京: 科学出版社:6
- 胡适宜. 1982. 被子植物胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社: 82
- Fang ZW(方志伟). 2003. Study on the anti-acid rain ability of landscape plants in Nanping(南平市园林绿化植物抗酸雨能力的研究)[J]. *J Fujian Coll Fore*(福建林学院学报), 23(1):9-13
- Fei YH(费引海), Gao PS(高平士). 2005. Preliminary report on adaptive capacity of 9 alkali-enduring tree species at island(海岛耐盐碱 9 树种适应性试验初报)[J]. *J Zhejiang Sci & Tech* (浙江林业科技), 25(3):28-30
- Gao HQ(高厚强), Zhang XL(张晓玲). 2003. Effect of atmosphere pollution in Hefei City on proportion of chlorophyll of plant leaf(合肥市大气污染对植物叶绿素(a、b)含量比例的影响)[J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 31(3):367-368
- Hu WH(胡文海), Xiao YA(肖宜安), He P(何平), et al. 2006. Effects of full sunlight after low night temperature on photosynthetic electron transport and absorbed light allocation in leaves of *Ficus microcarpa* and *Pittosporum tobira* (低夜温后光照对榕树与海桐叶片光合电子传递和吸收光能分配的影响)[J]. *J Southwest China Normal Univ* (西南师范大学学报), 31(1): 130-133
- Hu WH(胡文海), Xiao YA(肖宜安), Long WW(龙婉婉). 2005. Effects of night low temperature and sunlight on photoinhibition and photo-system II functions in leaves of *Pittosporum tobira* (Thunb.) Ait. and *Ficus microcarpa* (夜间低温后日间光照对海桐和榕树叶片的光抑制以及光系统 II 功能的影响)[J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 41(4):467-470
- Jiang RF(蒋蓉芳), Zhou DH(周德灏), Dai XD(戴修道). 2000. Study on purification of air mercury pollution by plants(植物净化空气中汞污染的研究)[J]. *Shanghai Environ Sci* (上海环境科学), 19(10):473-474
- Loukis A, Hatzioannou C. 2005. Volatile constituents of *Pittosporum tobira* cultivated in Greece[J]. *J Essential Oil Res*, 17:186-187
- Wen DZ(温达志), Kong GH(孔国辉), Zhang DQ(张德强), et al. 2003. Ecophysiological responses of 30 gardens plant species exposed to short-term air pollution(30 种园林植物对短期大气污染的生理生态反应)[J]. *Acta Phytoecol Sin* (植物生态学报), 27(3):311-317
- Xue L(薛立), Luo S(罗山). 2003. Changes in nitrogen and phosphorus and their retranslocation in leaves of evergreen and deciduous broad leaved trees(常绿和落叶阔叶树中 N 和 P 的变化及转移)[J]. *Fore Res* (林业科学研究), 16(2):166-170