

358-362

14498(13)

广西植物 Guihaia 15 (4): 358—362 1995

罗汉果双受精过程的细胞学观察

薛妙男 杨小华

(广西师范大学生物系, 桂林 541004)

Q949.782

A

摘要 罗汉果 (*Siraitia grosvenori* (Swingle) C. Jeffrey) 双受精过程属有丝分裂前配子融合类型, 授粉后 24~48 h, 花粉管进入胚囊, 穿过一个助细胞, 放出两个精子。雌雄核融合和雄核与次生核融合同时发生在授粉后 62~72 h, 雄核与次生核融合速度快于配子融合, 72 h 后即可见到初生胚乳核分裂, 合子中的雌雄核仁在授粉后第 5~6 d 融合, 授粉后 8~9 d 合成分裂形成二细胞胚。在双受精过程中, 多次观察到有多条花粉管进入胚囊和多精入极核现象。原胚期有附加花粉管从珠孔进入。

关键词 罗汉果; 双受精

细胞学; 葫芦科

CYTOLOGICAL OBSERVATION OF THE DOUBLE FERTILIZATION IN SIRAITIA GROSVENORI

Xue Miaonan Tang Xiaohua

(Biological Department, Guangxi Normal University, Guilin 541004)

Abstract The double fertilization in *Siraitia grosvenori* (Swingle) C. Jeffrey is the type of the premitotic syngamy. In 20 to 48 hours after pollination, the pollen tubes entered the embryo sac, cut across a synergid, then released two sperms. In 62 to 72 hours after pollination, the female nucleus fused with the male nucleus and the male nucleus fused with the secondary nucleus. The fussion between the male nucleus and the secondary nucleus was faster than the fussion betwiin the female nucleus and the male nucleus. In 72 hours after pollination, the primary endosperm nucleus divided. In 5 to 6 days after pollination, the female nucleolus fused with the male nucleolus in the zygote. In 6 to 9 days after pollination, the zygote divided to form two-celled embryo. During the double fertilization, many pollen nucleus. In the proembryonal stage, the additioinal pollen tubes entered from micropyle.

Key words *Siraitia grosvenori*; Double fertilization

罗汉果 (*Siraitia grosvenori* (Wingle) C. Jeffrey) 是广西特有珍贵果品, 素有良藻佳果之称, 畅销国内外, 久负盛名, 栽培历史悠久, 品种资源丰富。周良才等 1981 年对广西罗汉果品种资源调查研究, 认为桂林地区永福和临桂为世界罗汉果栽培起源中心⁽²⁾。

葫芦科植物的胚胎学研究, 已经积累了不少资料^(1, 3, 7, 8, 9, 10, 11)。但是, 对罗汉果胚胎发育的研究, 仅见于张振玉、钱南芬 (1990)⁽³⁾ 关于罗汉果大小孢子发育和雌雄配子体形成的报导。近几年来, 我们对罗汉果双受精过程进行了观察, 获得了罗汉果双受精过程的显微照片资料, 为罗汉果的遗传育种, 栽培研究提供了依据。

1 材料和方法

供试材料为临桂县苑田乡栽培面积最大的青皮果, 于每年7月中旬进行一次人工授粉, 授粉后1h至第3d, 每2h采集一次, 将子房横切为3段后进行固定, 4~10d, 每天采集一次, 将胚珠从子房中剖出后进行固定。先用卡诺氏液固定, 然后保存于FAA中。用常规石蜡法制片, 切片厚度为8~10 μm , 显微观察并摄影。

2 观察结果

2.1 授粉前、后胚囊的结构特征

罗汉果为倒生胚珠, 厚珠心, 胚囊发育为蓼型。珠孔端的卵器, 其中卵细胞的液胞大, 占据卵细胞的珠孔端部位, 细胞核位于合点端, 核大且具明显的核仁。两个助细胞和卵细胞位于同一光切面, 与卵细胞在空间上呈品字形排列, 助细胞为梨形, 其液胞位于合点端, 细胞核位于珠孔端, 在珠孔端可见到助细胞的丝状器。中央细胞高度液胞化, 上下极核在授粉前和卵细胞靠近。3个反足细胞位于胚囊的合点端, 通常作品字形排列, 消失较晚(图版I: 1)。

授粉后的48h内, 在花粉管进入胚囊放出两个精子的过程中, 由于中央细胞高度液胞化, 使胚囊迅速扩大和伸长, 如果液胞扩大发生在卵细胞与极核或次生核之间, 次生核或两极核远离卵细胞, 并以浓厚的细胞质索与卵细胞相连(图版I: 2)。另一种情况是扩大的液胞集中在中央细胞的合点端, 因此, 卵细胞和次生核仍然靠近(图版I: 3), 但后一种情况在胚囊中很少见到, 绝大部分胚囊中次生核远离卵细胞, 受精前, 大多数极核融合形成次生核。

2.2 双受精过程

授粉后36~48h, 花粉管由珠孔进入胚囊, 进入时, 破坏一个助细胞, 将两个精子释放到卵细胞与即将解体的助细胞之间(图I: 箭头I和箭头II所示), 两个精核被苏木精染色后, 颜色较深, 呈蠕虫形(图版I: 2, 3), 两个蠕虫形精子分别向卵细胞和次生核移动, 在次生核和卵核很接近的胚囊中, 其中一个精子已与次生核核膜紧贴(图版I: 3)。由于绝大多数胚囊中, 次生核远离卵细胞, 一个精子需要移动较长距离才能与次生核融合(图版I: 4, 6)。授粉后48~62h, 两个精子分别和卵细胞和次生核接近(图版I: 4, 5), 随后, 两个精核分别附在卵核膜和次生核核膜上(图版I: 4, 5), 所以, 配子融合和精核与次生核的融合几乎同时进行, 而精核与次生核融合比配子融合完成得早, 罗汉果雌雄配子融合和精核与次生核融合过程如下:

2.2.1 雌雄配子的融合: 授粉后48~62h, 精核和卵细胞膜接触(图版I: 4, 5), 随后附在卵核膜上(图版I: 6), 授粉后62~72h, 精核与卵核相靠部位的核膜融合, 精核染色质在卵核内分散, 在卵核内出现小的雄性核仁(图版I: 7), 在合子中, 雄性核仁逐渐增大体积, 直至雌雄核仁大小相等(图版I: 8), 并不融合, 到授粉后5~6d, 合子中的雌雄核仁融合(图版I: 9)。

2.2.2 精核与次生核融合: 授粉后48~62h, 雄配子向次生核移动并和次生核接触(图版I: 4, 5), 随后精核呈透镜开状贴靠在次生核的核膜上(图版I: 6), 精核与次生核的核膜融合, 精核染色质在次生核中分散(图版II: 10), 精核染色质进一步分散在次生核内并放出精核仁(图版II: 11), 在罗汉果中, 当精核仁出现在中央细胞后, 多数极核融合形



图 版 I

1. 七胞八核胚囊。2. 花粉管进入胚囊，释放两个精子，胚囊迅速扩大，次生核远离卵细胞。3. 两个蠕虫形精子移动，其中之一已与次生核核膜接触，中央细胞的液泡集中在合点端，卵核和次生核仍然靠近。4、5 两个精子分别和卵细胞、极核接近。6. 两个精子分别附在极核和卵核核膜上。7. 精核染色质分散，放出精核仁，次生核已受精。8. 精核仁体积长大，和雌核仁相等。9. 合子，各图放大 $\times 700$
 EC. 卵细胞，SEN. 次生核，PN. 极核，SP. 精子，SN. 精核，MN. 雄性核仁，ZY. 合子，PEN. 初生胚乳核，ANT. 反足细胞，PT. 花粉管。



图 版 II

10. 精核和次生核核膜融合, 精核染色质在次生核内松散。11. 次生核中出现小的雄性核仁。12. 雄性核仁进入后, 两极核未融合。13. 初生胚乳核。14. 初生胚乳核分裂形成两个游离胚乳核。15. 多条花粉管进入胚囊。16. 17. 多精子同时进入极核或次生核。18. 厚胚期附加花粉管从珠孔进入。各图放大 $\times 600$
 EC. 卵细胞, SEN. 次生核, SP. 精子, SN. 精核, MN. 雄性核仁, ZY. 合子, PEN. 初生胚乳核, ANT. 反足细胞, PT. 花粉管。

成次生核(图版I: 2、3; 图版II: 10、11), 但也还有相当数量的极核未融合(图版II: 12), 也有边融合边进入的现象(图版I: 5、6), 次生核和精核融合形成大型初生胚乳核, 悬挂在中央细胞原生质丝中(图版II: 13), 72 h 左右, 初生胚乳核分裂形成两个游离胚乳核(图版II: 14)。

2. 2. 3 多条花粉管和多精进入胚囊: 在授粉后 48 ~ 72 h, 多次观察到多条花粉管进入胚囊的现象(图版II: 15), 与此同时, 还多次看到多个精子进入未融合的极核或次生核中(图版II: 16、17), 在合子分裂后的原胚阶段, 还多次发现仍有附加花粉管从珠孔进入(图版II: 18)。在球胚至子叶胚阶段, 还可看到多条花粉管宿存于珠孔中。

3 讨 论

3. 1 罗汉果双受精过程与已研究过的葫芦科植物基本相似^[1, 6, 7, 8] 受精作用为有丝分裂前的配子融合类型, 在双受精过程中, 配子融合和精核与次生核融合几乎同时发生, 精核与次生核融合比配子融合早完成。不同之处主要表现在罗汉果双受精完成的时间为 5 ~ 6 d 而已报导的葫芦科植物双受精完成时间都在 48 h 左右^[1, 6, 7, 8]

3. 2 授粉前, 罗汉果胚囊中的卵器和极核是很靠近的, 授粉后, 当花粉管进入胚囊放出两个精子的同时, 中央细胞高度液泡化胚囊迅速扩大伸长, 致使次生核远离卵细胞, 并以浓厚的细胞质索与卵细胞相连。因此, 次生核不是在卵细胞附近发生受精作用, 与其受精的雄配子需要移动一段距离才能结合, 这一现象和连永权、申家恒 1989 年对人参胚胎学研究的成果^[4] 是一致的, 这一特性对罗汉果合点胚乳吸器及早形成有利。

3. 3 李树贤等 1987 年报导^[1], 在新疆甜瓜受精过程中曾多次观察到多条花粉管同时进入胚囊和多精入卵现象。在罗汉果双受精过程中, 也多次观察到多条花粉管同时进入胚囊的现象, 但没有看到多精子进入卵细胞, 只多次看到多精子进入极核中, 这种多精入极核现象, 使受精极核杂合性提高, 这与葫芦科合点吸器及合点端二类吸器的形成^[11] 及罗汉果果实中糖类积累有关。从球胚至子叶胚发育阶段, 珠孔中有多条花粉管宿存, 这一点与 SINGL, BAHADUR 1953 年^[9] 报导的葫芦科胚胎发育过程中常见有多条花粉管宿存, 并认为宿存花粉管对胚胎营养起重要作用的结论是一致的。

参 考 文 献

- 1 李树贤, 吴明珠. 新疆厚皮甜瓜受精过程的初步观察. 园艺学报, 1987, 14(1): 49 ~ 52
- 2 周良才, 张碧玉, 覃 良等. 罗汉果品种资源调查研究和利用意见. 广西植物, 1(3): 29 ~ 33
- 3 张振珏, 莫庭旭, 钱南芬. 罗汉果大小孢子发生与雌雄配子的发育. 植物学报, 1990, 32(2): 157 ~ 159
- 4 连永权, 申家恒. 人参胚胎学研究. 植物学报, 1989, 31(9): 653 ~ 660
- 5 胡适宜, 朱 澈. 高等植物受精作用中雄性核与雌性核的融合. 植物学报, 1979, 21(1): 1 ~ 10
- 6 Cholakhyan D P. Cytological-embryological data from investigation of some representatives of Cucurbitaceae in the condition of the Ararat plain. Armenian SSR VCH ZAP Erevan Univ. 1963, 97: 3 ~ 9
- 7 Dzevaltovsky A K. Cyto-embryological investigations in a number of Cucurbitaceae species (In Russian) Vkr Bot J. 1963, 20: 16 ~ 29
- 8 Maheswari Devi H Naidv K C. Embryological studies in Cucurbitaceae—I. Melothriaceae. J Jap Bot. 1963, 58: 366 ~ 375
- 9 O Singh, Bahadur. Studies on the structure and development of seeds of Cucurbitaceae. Phytomorphology. 1953, 3: 244 ~ 239
- 10 Singh Dalbir. Embryological studies in Cucumis mel L Var pubescens willd. J Indian Bot Soc. 1955, 34: 72 ~ 78
- 11 R. N. Chopra. Some observations on endosperm development in the cucurbitaceae. Phytomorphology. 1955, 219 ~ 230