

# 含笑小孢子的发生、雄配子体的发育及其系统学意义

敖成齐

(温州大学 生命与环境科学学院, 浙江 温州 325027)

**摘要:** 含笑的花药具4个小孢子囊,花药壁由表皮、药室内壁、3~6层中层和绒毡层组成。绒毡层细胞在发育后期由单核分裂为2核,原位解体,为腺质型;小孢子母细胞在减数分裂过程中胞质分裂为同时型,小孢子四分体为四面体型,也有左右对称型的;成熟花粉为3细胞型。在前人对含笑小孢子发生和雄配子体发育的观察描述基础上,丰富了含笑的胚胎学资料,并对其系统学意义进行了探讨。

**关键词:** 含笑;小孢子发生;雄配子体;花药壁;系统学

**中图分类号:** Q944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)06-0836-04

## Microsporogenesis, development of male gametophyte in *Michelia figo* and their systematic significance

AO Cheng-Qi

(School of Life and Environmental Sciences, Wenzhou university, Wenzhou 325027, China)

**Abstract:** For *Michelia figo*, there are four microsporangia in the anther whose wall is composed of epidermis, endothecium, 3-6 middle layers and a tapetum. The antheral tapetum, consisting of monocyte or binucleated cells, degenerated in situ, thus belonging to glandular type. The simultaneous cytokinesis in microspore mother cells leads to tetrahedral as well as isobilateral (bilaterally symmetrical) tetrads. The mature pollen grains are 3 celled. In the present study embryological features of *M. figo* were depicted further based on the former relative reports and their systematic significance was discussed.

**Key words:** *Michelia figo*; microsporogenesis; male gametophyte; anther wall; systematics

含笑(*Michelia figo*)是木兰科(Magnoliaceae)含笑属(*Michelia*)的著名观赏树种,在我国已得到广泛的栽培。含笑树形壮丽、幽雅,花开如笑、浓香袭人。其木材优良,是良好的家具、建筑用材,在药用、香料等方面也有较大用途,是具有巨大潜在应用价值的珍贵植物(明军等,2004)。

植物大小孢子发生和雌雄配子体发育等胚胎学特征的观察是植物生殖生物学研究的核心内容之

一,也是制定濒危植物保护策略的主要依据之一。关于含笑属的胚胎学,国外开展得较早,如 Hayashi 先后报道了 *Michelia fuscata* 的大孢子发生和雌配子体发育(Hayashi, 1964)和含笑的小孢子发生和雄配子体的发育(Hayashi, 1966),然而国内尚未见这方面的文献报道。作为含笑胚胎学研究的一部分,本文先报道含笑的小孢子发生、雄配子体的发育以及花药壁的发育过程,为含笑的遗传育种积累基础

收稿日期: 2006-05-08 修回日期: 2006-10-05

基金项目: 温州师范学院引进人才启动基金; 浙江省高校青年教师资助计划项目[Supported by Initial Foundation for the Introduced Talents of Wenzhou Normal College; Foundation for Young Teachers in High Schools of Zhejiang Province]

作者简介: 敖成齐(1967-),男,安徽和县人,副教授,博士,主要从事植物分类学和胚胎学研究。

性的资料。

## 1 材料与方 法

供试材料取自温州师范学院校园。取自然生长植株上不同发育阶段的花,分别用 FAA 固定并保存(取样时间是上午 9:00~10:00)。制片时,用广西岑溪市松香厂研制的 TO 型生物制片透明剂代替二甲苯进行透明,常规石蜡包埋,依不同花期切片厚度为 6~10  $\mu\text{m}$ ;铁矾-苏木精染色,固绿或番红复染;Olympus BX40F-3 型光学显微镜观察、照相。

## 2 观察结果

含笑花单生于小枝的叶腋里,两性,白色,花被 6 个,2 轮,不分化为花瓣和萼片。花药长,花丝短。雄蕊和心皮多数,螺旋状排列在膨大的花托上。花的横切面显示雄蕊呈现明显的向心式发育,外围花药的花粉粒较内侧花药的发育快。外轮雄蕊有退化趋势(图版 I:1)。

### 2.1 花药壁发育

早期花蕾的花被内最初形成的突起为雄蕊原基,此时内部细胞无分化,随后,在幼小雄蕊上部将来形成花药的 4 个角隅处表皮下分化出 1 个孢原细胞,孢原细胞平周分裂即形成初生壁细胞和初生造孢细胞。初生壁细胞平周分裂形成药室内壁(1 层),中层(3~6 层)和绒毡层(1 层)与表皮共同构成花药壁(图版 I:5)。此时绒毡层细胞在形态上与其他药壁细胞无明显差异。早期绒毡层细胞为单核,当小孢子母细胞减数分裂开始时,绒毡层细胞明显增大,细胞质浓厚,核大并进入有丝分裂状态,经过前期(图版 I:9-P)、中期(图版 I:9-M)、后期(图版 I:9-A)和末期(图版 I:9-T)形成 2 核;绒毡层在小孢子母细胞时期达到最高度的发育,随着细胞壁的加厚,退化的绒毡层在原位被吸收,其核与质不进入药室(图版 I:8)。从绒毡层的发育过程来看,含笑的绒毡层为腺质型绒毡层。

小孢子母细胞减数分裂开始时,中层细胞即开始退化。从图版 I:6,7 看出,中层是逐步退化的:在图版 I:6 中,有 2 层中层保留下来,其余退化;而在图版 I:7 中,只有 1 层中层被保留下来。四分体释放时期,药室内壁细胞开始径向延长,先发生于 4 个角隅处,至单核和二核花粉时期,整个药室内壁明

显径向延长,且出现加厚的壁即形成纤维层(图版 I:8)。

### 2.2 小孢子发生及雄配子体发育

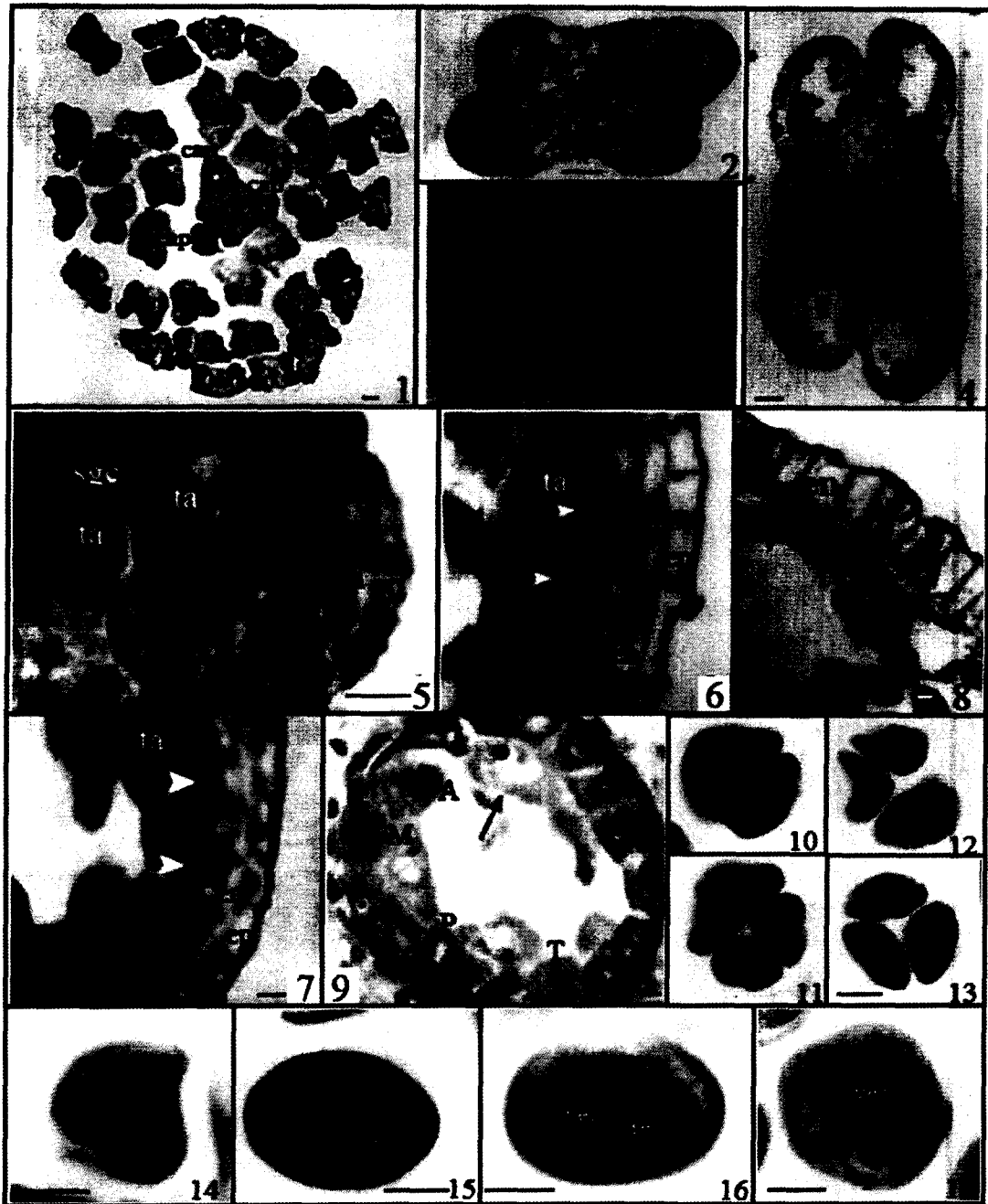
初生造孢细胞经数次不定向的分裂后,形成多角形排列更紧密的次生造孢细胞(图版 I:5 中的 sgc),次生造孢细胞继续发育,即行使小孢子母细胞的功能(图版 I:9,箭号所示为一个小孢子母细胞,注意此时的花药腔已显著扩大)。小孢子母细胞在减数分裂第一次分裂后,产生的 2 个子核之间不形成壁,双核细胞包埋在共同的胼胝质壁中,直到第二次分裂结束后,在 4 个核之间产生壁,所以胞质分裂为同时型。小孢子四分体主要为四面体形的(图版 I:12,13),也有左右对称型的(图版 I:10,11)。胼胝质壁解体后小孢子四分体互相分离,此时的小孢子形状很不规则,细胞核相对较大,位于细胞中央,液泡不明显,其花粉壁呈收缩状态(图版 I:14)。很快细胞变圆,可见明显外壁(图版 I:15),然后进行有丝分裂。小孢子的有丝分裂为均等分裂,形成圆球状的生殖细胞,与营养核形状、大小相近(图版 I:16)。此生殖细胞在花药壁即将开裂的时候,再分裂成两个精细胞(精子)(图版 I:17)。因此,含笑成熟花粉为 3 细胞型的。成熟花药中,除有少数败育的花粉粒外,多数花粉粒发育正常。

同一花药中不同药室的花粉粒发育有时不同步,但同一药室内花粉发育基本同步。

## 3 讨论

Hayashi(1966)可能是最早研究含笑小孢子发生和雄配子体发育的人。他报道了含笑的孢原细胞起源于表皮下;花药壁是由表皮、纤维化加厚的药室内壁、2~3 层中层和多核的绒毡层组成;小孢子四分体是交叉成十字形的或两侧对称型的;成熟花粉粒是 2 细胞型的等。Hayashi 为含笑的胚胎学研究积累了宝贵的资料,在当时的研究条件下是十分可贵的。但应该指出,他除了提供“交叉成十字形的或两侧对称型的小孢子四分体”的清晰照片,其余的描述都是局限在手工绘制的图版或文字上,因此很难让人信服。

本文首次观察到含笑的花药壁具有 3~6 层中层细胞、四面体型四分体以及典型的 3 细胞成熟花粉,是对含笑胚胎学资料的有益补充。“含笑花粉粒是在 2 细胞状态下散发的”(Hayashi,1966)的论断



图版 I fa:花轴; cap:心皮; sta:雄蕊; ep:表皮; en:药室内壁; ta:绒毡层; mi:中层; P:前期; M:中期; A:后期; T:末期; Sgc:造孢细胞; vec:营养细胞; rec:生殖细胞; sp:精子。1.花顶部横切; 2.小孢子母细胞时期的花药横切; 3.小孢子四分体时期的花药横切; 4.成熟花药横切; 5.造孢细胞(sgc)时期的花药壁是由表皮(ep),药室内壁(en),3-6层中层(mi)和绒毡层(ta)组成; 6.小孢子母细胞时期只剩下2层中层,其余退化,箭头表示中层正在退化; 7.小孢子母细胞减数分裂开始后,只剩下1层中层,其余退化,箭头表示中层正在退化; 8.药室内壁纤维化成为纤维层; 9.绒毡层细胞有丝分裂的前期(P)中期(M)后期(A)和末期(T),箭头所示为小孢子母细胞; 10,11.左右对称型四分体; 12,13.四面体型四分体; 14.刚由四分体释放出来的花粉,花粉壁呈强烈收缩状态; 15.单核花粉; 16.2细胞花粉; 17.3细胞花粉。1-4:标尺=100 μm; 5-17:标尺=10 μm; 10-13:拥有同一标尺。

Plate I fa: floral axis; cap: carpel; sta: stamen; ep: epidermis; en: endothecium; ta: tapetum; mi: middle layer; P: Prophase; M: Metaphase; A: Anaphase; T: Telophase; Sgc: sporogenous cells; vec: vegetative cell; rec: reproductive cell; sp: sperm. 1. a transection of floral axis; 2. a transection of anther in the stage of microsporocyte; 3. a transection of anther in the stage of microspore tetrad; 4. a transection of mature anther; 5. the anther wall in sporogenous cells consists of epidermis(ep), endothecium(en), 3-6 middle layers(mi) and tapetum(ta); 6. only 2 middle layers are left and the other middle layers degenerated at microsporocytes(the arrow head points to the degenerating middle layer); 7. only 1 middle layer are left and the other middle layers degenerated at the beginning of meiosis in microsporocytes(the arrow head points to the degenerating middle layer); 8. the endothecium turns into fibrous layer; 9. prophase, metaphase, anaphase and telophase of mitosis in a tapetum cell(the arrow points to a microsporocyte); 10-11. isobilateral tetrad; 12-13. tetrahedral tetrad; 14. a pollen grain just released from tetrads with its wall shrunk heavily; 15. uninucleated pollen grain; 16. 2-cell pollen grain; 17. 3-cell pollen grain. 1-4: scale bar=100 μm; 5-17: scale bar=10 μm; 10-13: shared the same scale bar.

显然是观察不够全面的结果。

含笑属原属于木兰属。因花腋生和雌蕊群具柄这 2 个显著的特征,含笑属被从木兰属中分出来(Dandy,1927)。但越来越多的证据表明,含笑属与木兰属中的玉兰亚属的亲缘关系密切。如 RFLP、matK、ndhF 序列分析均显示含笑属与玉兰亚属为单系类群(王亚玲等,2003),从而暗示着含笑属与木兰属的不可分。比较含笑和凹叶厚朴的小孢子发生和雄配子体的发育(王利琳等,2005),不难发现含笑与凹叶厚朴存在着一定的差异:含笑的幼小花药壁有 3~6 层中层细胞,而凹叶厚朴的幼小花药壁有 2~3 层中层细胞;含笑的小孢子四分体有四面体型的和左右对称型的,虽然据王利琳等(2005)的描述,凹叶厚朴只有左右对称型的小孢子四分体,但在图版 I:7 中,小孢子四分体应属于四面体型,和本文的描述应该是一致的。含笑的成熟花粉为 3 细胞型,而凹叶厚朴的成熟花粉为 2 细胞型。这些客观存在的差别应该成为含笑属从木兰属分离出来的一个佐证。

在木兰科的进化系统中,叶常绿、花顶生、胚珠多数的木莲属被认为是本科中最原始的类群,而花腋生、雌蕊群具柄的含笑属为较进化的类群(王亚玲等,2003)。木兰属胚珠减少到 2 枚,但仍保留花顶生这一原始性状,在进化上应属于上述两个属的中间类型。从目前报道的木莲属和木兰属的胚胎学资料来看,成熟花粉都是 2 细胞型的(潘跃芝等,2001,2003;王利琳等,2005;肖德兴等,2004)。在调查过的 2000 种被子植物中,有 70% 的种类成熟花粉是 2 细胞型花粉(胡适宜,1982)。Brewbaker(1967)的研究证实,所有系统发育原始的种成熟花粉都是 2 细胞型的。按照这一观点推断,木莲属和木兰属应是原始类群,而含笑属具有 3 细胞型成熟花粉粒,应当是属于比较进化的类群。这和当今大多数分类学家对上述三个属在系统位置上的安排(即木莲属→木兰属→含笑属)是一致的。

被子植物雄配子体发育中,单核花粉的第一次核分裂往往高度不均等,导致 1 个大的营养核和 1 个小的生殖核(胡适宜,1982)。含笑小孢子核的第一次有丝分裂为均等分裂,形成圆球状的生殖细胞,与营养核形状、大小相近。这种现象李铭等(2000)在单穗升麻的雄配子体发育中观察到,其在系统发

育中的意义如何还有待于今后进一步研究。

日本林业林产研究所 Shuichi Noshiro 教授提供了与本研究相关的重要文献,谨此致谢。

### 参考文献:

- 胡适宜. 1982. 被子植物胚胎学[M]. 北京:高等教育出版社:40,43
- Brewbaker J L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms[J]. *American J Bot*, **54**:1 069-1 083
- Dandy J E. 1927. The genera of Magnoliaceae[J]. *Kew Bulletin*, **7**:257-264
- Li M(李铭), Chen XL(陈晓麟), You RL(尤瑞麟). 2000. A study on the development of the anther and the male gametophyte in *Cimici fugas implex* Wormsk(单穗升麻的花药和雄配子体发育)[J]. *Acta Sci Nat Univ Pekinensis*(北京大学学报(自然科学版)), **36**(2):186-192
- Hayashi Y. 1964. The embryology of the family Magnoliaceae sens. lat. III. Megasporeogenesis, female gametophyte and embryology of *Magnolia liliiflora* and *Michelia fuscata*[J]. *Sci Rep Tohoku Univ Ser IV (Biol)*, **30**:89-98
- Hayashi Y. 1966. Embryology of the family Magnoliaceae sens. lat. IV. Microsporogenesis and development of the male gametophyte in *Michelia figo* Spreng[J]. *Sci Rep Tohoku Univ Ser IV (Biol)*, **32**:111-118
- Ming J(明军), Gu WC(顾万春). 2004. Research advances on *Michelia* in China(中国含笑属植物研究进展)[J]. *J Central South Fore Univ*(中南林学院学报), **24**(5):147-152
- Pan YZ(潘跃芝), Gong X(龚洵), Liang HX(梁汉兴). 2001. Studies on the formation of microspores and development of male gametes in *Manglietia insignis*(濒危植物红花木莲小孢子发生及雄配子体发育的研究)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **23**(1):85-90
- Pan YZ(潘跃芝), Gong X(龚洵), Liang HX(梁汉兴). 2003. A study on the embryology of endangered plant *Manglietia aromatica*(濒危植物香木莲的胚胎学研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **21**(1):1-8
- Wang LL(王利琳), Hu JQ(胡江琴), Pang JL(庞基良), et al. 2005. Studies on the megasporeogenesis and microsporogenesis and the development of their female and male gametophyte in *Magnolia biloba*(凹叶厚朴大小孢子发生和雌雄配子体发育的研究)[J]. *Acta Biologica Experimentalis Sin*(实验生物学报), **38**(6):490-500
- Wang YL(王亚玲), Cui TC(崔铁成), Zhang SZ(张寿洲). 2003. The studying progress of classification in Magnoliaceae(木兰科植物系统学研究进展)[J]. *J Northwest Fore Univ*(西北林学院学报), **18**(2):22-28
- Xiao DX(肖德兴), Yu ZX(俞志雄). 2004. Anther development in *Sinomanglietia glauca*(Magnoliaceae)(华木莲花药的发生发育)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), **12**(4):309-312