

雷竹大孢子发生与雌配子体发育*

林新春 袁晓亮 林 绕 娄永峰 方 伟

(浙江林学院 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地 临安 311300)

摘 要: 利用常规石蜡切片技术对雷竹大孢子发生与雌配子体发育的过程进行研究。结果表明:雷竹单子房,子房 1 室,内具 1 个倒生胚珠;双珠被,厚珠心;大孢子母细胞由 1 个雌性孢原细胞直接发育而成,大孢子四分体呈线型;蓼型胚囊,成熟胚囊包括 1 个卵细胞、2 个助细胞、2 个极核组成的中央细胞以及多个反足细胞,助细胞具明显丝状器。雌配子体发育多数正常,不是造成雷竹结实率低的主要原因。

关键词: 雷竹;大孢子发生;雌配子体;结实率

中图分类号:S718.47 文献标识码:A 文章编号:1001-7488(2010)05-0055-03

Megasporogenesis and Female Gametophytes Development of *Phyllostachys violascens*

Lin Xinchun Yuan Xiaoliang Lin Rao Lou Yongfeng Fang Wei

(The Research Center for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture Zhejiang Forestry University Lin'an 311300)

Abstract: Megasporogenesis and female gametophyte development of *Phyllostachys violascens* were studied by classical paraffin microtome techniques. The observed results are as followed: There is a simple ovary, which is unilocular and uniovulate, in one floret. The ovule is anatropous, bitegminous and crassinucellate. The megasporocyte undergoes meiotic division to form linear megaspore tetrad. The embryo sac is polygonum type, including one egg cell, two synergid cells with evident filiform apparatus, one central cell consisting of two polar nuclei, and numerous antipodal cells. The development of the most female gametophyte is normal, which is not the main reason of low seed setting rate of *P. violascens*.

Key words: *Phyllostachys violascens*; megasporogenesis; female gametophyte; seed setting rate

竹类植物开花周期长,开花时间难以预测,且开花后通常死亡,竹类植物特有的生殖特性使胚胎学与杂交育种研究难以开展(Nadgauda *et al.*, 1993; Jazen, 1976; 王曙光等, 2006; 卢江杰等, 2009)。

雷竹(*Phyllostachys violascens*) (又名早竹)为我国特有的优良笋用竹种,出笋早,产量高,经济效益显著,在浙江、江西、安徽等南方省区得到了大规模推广(刘力等, 2001)。雷竹林开花现象十分普遍,但结实率很低(2%~5%) (胡超宗等, 1992)。黄坚钦等(1999)研究了雷竹小孢子发生和雄配子体的发育,发现花药在发育中存在一些异常现象,可能是引起雷竹结实率低的一个主要原因。本文进一步研究了雷竹大孢子发生和雌配子体发育规律,探讨结实率低的原因,为竹类植物的生殖生物学研究积累资料,并为雷竹与其他竹种的杂交育种工作打下良好的基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

材料于 2005 年 4 月采自浙江省临安市锦城镇的平山村雷竹样地。采集不同发育阶段的小花,分为花药未露头、花药刚露头、花药约 1/2 伸出、花药完全伸出 4 个等级,在解剖镜下去除内外稃及雄蕊,留下子房,迅速置于 FAA 固定液(70% 酒精:冰醋酸:福尔马林体积分数为 90:5:5)中固定并抽气,保存于低温冰箱中,用于石蜡切片。

1.2 研究方法

石蜡切片方法参照李正理(1996),但染色方法有所不同。

染色:将材料置于 4% 硫酸铝铵溶液中媒染 1 h,用清水冲洗 20 min,转入蒸馏水中放置 5 min,再转入 0.5% 苏木精染液中染色 8~16 h。

分色:将染好的材料用清水冲洗 5 min 后放入蒸馏水中放置 5 min,再转入 2% 硫酸铝铵溶液中分色 15~20 s,不断镜检,直到细胞质变为蓝色、细胞核变为紫色。将材料放入流水中冲洗 30 min 即可脱水、封片。

将晾干后的载玻片置于 Olympus BX60 显微镜下观察,并用 Olympus DP70 全自动照相系统拍照。

2 结果与分析

2.1 子房结构

雷竹花芽形成雌蕊原基后,经过生长分化,形成柱头、花柱及子房。柱头 3 裂,边缘具绒毛而成羽毛状,展开后呈紫红色。花柱细长,白色,透明。子房长圆锥型,上端与花柱相连而无节,下端延长与胎座相连。子房一室,内具 1 个倒生胚珠,位于子房与胎座之连接部分。胚珠呈柱状,受挤压而向下倾斜,无明显合点而形成宽阔的合点域,外具 2 层内外珠被。在内外珠被顶部留有一小孔,为珠孔。珠被内包裹着一珠心,珠心无柄,靠近珠孔,大孢子母细胞形成时,其外层具 2~3 层细胞,为厚珠心发育式。

2.2 大孢子发生

子房发育的早期,其内室中央表皮出现一微小突起,即为胚珠原基。当花药长 1.8 mm,珠心长 60 μm 时,出现孢原细胞的分化,此时未见内外珠被原基的分化。孢原细胞位于珠心表皮下第 2 细胞层中,该细胞体积明显偏大,长可达 18 μm ,细胞质浓密,细胞核也较周围细胞核大(图版 I-1)。随后,内珠被、外珠被相继分化,并很快包围珠心,同时孢原细胞增大,直接发育成大孢子母细胞,伸长后可达 35 μm 。由于受挤压等力的作用,胚珠开始倒转(图版 I-2)。大孢子母细胞染色体进行自我复制后经减数分裂一分为二,进入二分体时期。二分体中的 2 个细胞又迅速各自进行 1 次减数分裂,形成一字排开的四分体。四分体一端对着合点端(即合点域),一端对着珠孔端(图版 I-3)。接着,靠近珠孔端的 3 个大孢子相继退化而留下部分胼胝质体(图版 I-4)。靠近合点端的功能大孢子周围不断出现液泡(图版 I-5),并逐渐发育为成熟功能大孢子(图版 I-6),从而进入雌配子体发育阶段。此时,小花雄蕊仍未伸出内外稃。

2.3 雌配子体发育

雌配子体的发育开始于成熟功能大孢子。当功能大孢子成熟后,细胞壁逐渐解体,周围细胞相继消融,四周液泡范围不断增大,同时大孢子细胞核进行第 1 次有丝分裂进入 2 核期,此时液泡四周与周围

细胞衔接处胼胝质体明显加厚(图版 I-7)。接着 2 个核分别向珠孔和合点两极移动,并随后各自进行第 2 次有丝分裂,进入 4 核期(图版 I-8)。接着,4 个细胞核各自进行第 3 次有丝分裂,形成两端各有 4 核的 8 核胚囊结构。而后两端各有一核移向中央形成具有上下极核的中央细胞(图版 I-9c)。珠孔端的 3 个细胞核形成具有 1 个卵细胞(图版 I-9b)和 2 个助细胞(图版 I-9a)组成的卵器,其中卵细胞位于中间并靠近中央细胞,助细胞位于两侧并靠近珠孔端。助细胞靠近胚囊壁的部分明显加厚变密,形成丝状器(图版 I-9c)。而合点端的 3 个细胞核多次分裂形成多个反足细胞(图版 I-10)。至此,成熟胚囊形成,雌配子体产生。成熟胚囊由位于珠孔端的卵器、中间的中央细胞以及靠近合点端的多个反足细胞组成。此时,花药未伸出或只有一半伸出内外稃。

3 讨论

3.1 雷竹子房与成熟胚囊结构

有关竹类植物的胚胎学研究资料很少,仅包括毛竹(*Phyllostachys edulis*) (乔士义等,1984)、寒竹(*Chimonobambusa marmorea*) (胡成华等,1994)、巨龙竹(*Dendrocalamus sinicus*) (王曙光等,2006)与月月竹(*Menstruocalamus sichuanensis*) (林树燕等,2009)等少数竹种的雌雄配子体发育,以及雷竹(黄坚钦等,1999)和爬竹(*Drepanostachyum microphyllum*) (庞延军等,1994)的雄配子体发育规律研究。

雷竹单子房,子房 1 室,内具 1 个倒生胚珠;双珠被,厚珠心,蓼型胚囊;大孢子母细胞由 1 个雌性孢原细胞直接发育而成,大孢子四分体呈线型。这些特点与毛竹(乔士义等,1984)、寒竹(胡成华等,1994)、巨龙竹(王曙光等,2006)及月月竹(林树燕等,2009)的子房构造基本相同,也与水稻(*Oryza sativa*)等作物相似,具备了禾本科植物子房的一般结构特点(杨弘远,2005)。

雷竹成熟胚囊包括 1 个卵细胞、2 个助细胞、2 个极核组成的中央细胞以及多个反足细胞。助细胞具明显丝状器,与水稻等禾本科其他植物的成熟胚囊类似(杨弘远,2005)。助细胞在植物受精过程中起到引导雄配子体进入雌配子体的作用(胡适宜等,2002),而丝状器增大了与周围细胞的接触面积,可能跟珠心与珠被之间的物质转运有关(刘穆,2004)。董健等(1989)对水稻助细胞超微结构研究表明,助细胞珠孔端细胞壁厚,合点端壁薄,具有极

性现象,且1个助细胞珠孔端存在明显的丝状器结构,这与雷竹的胚囊结构相似,但是雷竹胚囊中2个助细胞均具有明显的丝状器结构(图版I-9c)。

反足细胞具有丰富的细胞质,与珠心相连处具有发达的壁内突,在受精前后逐渐消失,因此被认为跟胚胎发育的营养有关(杨弘远,2005)。在禾本科植物中,反足细胞变化最明显,水稻有3~5,5~10,10~15,6~20个等不同报道(杨弘远,2005)。反足细胞在发育初期进行有丝分裂,但以后主要进行无丝分裂(戴伦焰等,1964;董健等,1989)。根据观察,雷竹反足细胞至少在10个以上,是否也进行无丝分裂有待于进一步研究。

3.2 竹子结实率

竹子开花多具“花而不实”的现象。与巨龙竹(王曙光等,2006)及月月竹(林树燕等,2009)等竹种相似,雷竹胚囊多数发育正常,但结实率很低。黄坚钦等(1999)研究发现,雷竹雄配子体发育过程存在2种异常现象:1)在小孢子母细胞时期,当绒毡层逐渐趋于解体,通过内表面向药室分泌腺质时,小孢子母细胞却仍彼此粘连,引起减数分裂受阻,导致败育;2)当小孢子母细胞减数分裂形成四分体时,绒毡层仍处于发育阶段,不能向药室分泌物质,过早形成的四分体呈现出败育迹象。以上2种异常现象都会导致雄性不育。庞延军等(1994)在爬竹花药分化、造孢组织分化、小孢子形成和雄配子体形成等时期均发现了发育异常的雄蕊。林树燕等(2009)也发现在月月竹的花药发育过程中,小孢子收缩变形现象十分普遍,可能是导致花粉活力低的重要原因。所以,雄配子体的发育异常可能是导致部分竹类植物结实率低的重要原因之一。何奇江等(2003)认为雷竹开花时柱头很少露出稃片且花柱多弯曲影响了雷竹花授粉。雌雄异熟(如巨龙竹)、传粉有效性低(如月月竹)等可能也是部分竹类植物结实率低的影响因素(王曙光等,2006;林树燕等,2009)。此外,在调查过程中发现,由于临安等地雷竹林长期采用覆盖等促成栽培措施,竹林内病虫害普遍发生,在雷竹小花内部,常可见弱小蠕虫啃食子房,严重影响了子房及花柱的发育。因此,造成竹子结实率低的原因是多方面的,有性生殖任何一

个环节出现障碍,都将造成生殖的失败(梁春莉等,2005)。

参 考 文 献

- 戴伦焰,曾子申. 1964. 水稻胚囊的形成与发育. 武汉大学学报,10(2):97-110.
- 董 健,杨弘远. 1989. 水稻胚囊超微结构的研究. 植物学报,31(2):81-88.
- 何奇江,汪奎宏,华锡奇,等. 2003. 雷竹花穗和花器的观察研究. 浙江林业科技,23(2):10-11.
- 胡超宗,张建明,胡明强. 1992. 雷竹生物学特性的研究. 浙江林业学院学报,9(2):133-143.
- 胡成华,喻富根,庞延军. 1994. 寒竹胚胎学观察与研究. 竹子研究汇刊,13(4):6-13.
- 胡适宜,杨弘远. 2002. 被子植物受精生物学. 北京:科学出版社,78-102.
- 黄坚钦,黄华宏,何福基,等. 1999. 雷竹的小孢子发生和雄配子体形成. 竹子研究汇刊,18(3):55-58.
- 李正理. 1996. 植物组织制片. 北京:北京大学出版社,15-50.
- 梁春莉,刘孟军,赵 锦. 2005. 植物种子败育研究进展. 分子植物育种,3(1):117-122.
- 林树燕,郝娟娟,辛 华,等. 2009. 月月竹大、小孢子发生和雌、雄配子体发育研究. 南京林业大学学报:自然科学版,33(3):9-12.
- 刘 力,林新春,叶丽敏. 2001. 雷竹不同栽培类型竹笋的蛋白质组成. 浙江林学院学报,18(3):271-273.
- 刘 穆. 2004. 种子植物形态解剖学导论. 北京:科学出版社,272-297.
- 卢江杰,吉永胜彦,方 伟,等. 2009. 3种竹类植物杂种的分子鉴定. 林业科学,45(3):29-34.
- 庞延军,喻富根,胡成华,等. 1994. 爬竹雄蕊发育异常的初步观察. 竹子研究汇刊,13(4):42-46.
- 乔士义,廖光庐. 1984. 毛竹的胚胎发育观察. 竹类研究,(1):15-22.
- 王曙光,普晓兰,丁雨龙. 2006. 巨龙竹生殖器官形态结构及雌、雄配子体的发育. 植物研究,26(3):270-274.
- 杨弘远. 2005. 水稻生殖生物学. 杭州:浙江大学出版社,19-69.
- Janzen D H. 1976. Why bamboos wait so long to flower. Annual Review of Ecology and Systematics, 7:347-391.
- Nadgauda R S, John C K, Mascarenhas A F. 1993. Floral biology and breeding behaviour in the bamboo *Dendrocalamus strictus* Nees. Tree Physiology, 13(4):401-408.

(责任编辑 徐 红)