

水稻“双-3”多胚发生的研究

叶秀彝 陈泽濂 黎垣庆

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要

水稻 AP IV (双-3、籼稻) 传粉后可以有多个花粉管同时进入胚囊。大多数胚囊的合子发育为一个正常的胚, 但是有少数合子胚发生裂生并分化形成双胚芽和一胚根。有些胚囊的助细胞和卵细胞同时受精后, 分别发育为助细胞胚和合子胚; 有些胚囊中的反足细胞团可直接发育为胚。可见“双-3”水稻除有正常合子胚外还存在助细胞胚和反足细胞胚的多胚现象。

关键词: 水稻; 合子胚; 裂生胚; 助细胞胚; 反足细胞胚

国内外一些学者在筛选水稻无融合生殖材料过程中对双苗和多苗水稻进行了多学科的研究^{1), [1,2,6-9]}, 其中对水稻“双-3”等材料多胚现象有过研究^[2,7,8], 但对其发生未有系统的细胞胚胎学的确切结论, 存疑和争论之处颇多, 为此我们采用整体透明和石蜡切片两种方法相结合对“双-3”材料的受精过程和各种胚发生和发育过程进行了较系统的观察, 获得了一些较为确切的结果。

材料和方法

水稻 AP IV (双-3、籼稻) 简称“双-3”材料, 为华南植物研究所实验田种植。分别在刚开花, 开花后 1、2、4h 和 1、2、4d 以及胚发育的不同阶段进行采样, 在 FAA 固定液中固定和保存。制作两种标本分别用: (1) 石蜡切片采用 Ehrlich's, 酸性苏木精整体染色, 常规石蜡制片, 切片厚度 8-12 μ m; (2) 整体透明标本用 10% 硫酸: 醋酸酐为 4:1, 预处理 30min, 水洗, 爱氏苏木精稀释液 (50% 乙醇: 50% 醋酸: 饱和碳酸锂: 爱氏苏木精 4:4:1:1) 染色 30min, 水洗后氨水碱化处理, 然后乙醇脱水, 二甲苯透明, 加拿大树胶浸渍约 24h 后封片。

成熟种子进行萌发试验, 观察胚芽、胚根的形状及相互之间的关系。

观察结果

水稻“双-3”与其他水稻一样, 开花时胚囊已发育成熟, 花粉在柱头上萌发, 开花 2h 左右可以有多

863 计划资助课题

邵耘参加制片及照片冲洗工作, 特此致谢。

1) 叶秀彝, 陈泽濂, 黎垣庆等。水稻雄性不育系 C1001 的胚胎学研究。中国科学院华南植物研究所集刊。(待发表)

1994-08-26 收稿; 1994-10-10 修回

个花粉管到达珠孔[图版I:2],通过其中一个退化的助细胞进入胚囊并释放出精子[图版I:4]。在受精前大多数胚囊中的一个助细胞开始退化,另一个助细胞和卵细胞的核仁明显[图版I:1],当精子进入胚囊后进行正常的双受精,其中一精子进入卵细胞[图版I:6],然后精核与卵核融合[图版I:3],卵细胞受精后发育为合子,大多数的合子都发育为正常的合子胚。但有些胚囊出现如下几种异常现象:

1、合子胚裂生 有些胚囊的合子发育至球形胚时,在胚的顶端中央部位的细胞向两边分开[图版Ⅲ:4],随着胚的发育,分开的两边各自不断生长增大,发育至心形胚时胚的中央便形成一条明显的裂缝,但胚的基部始终相连着[图版Ⅲ:5],当胚生长发育到一定阶段时,两个裂生的部分各自分化形成胚芽,在珠孔端相连部分只分化出一条胚根[图版Ⅲ:6]。这类裂生胚在种子萌发试验中可见相应的两个大小相近的芽和一条主根。

2、助细胞胚 当花粉管到达珠孔时,多数胚囊的两个助细胞中的一个先解体,随后另一个助细胞也解体。少数胚囊的助细胞有不同情况:(1)一个助细胞解体后,另一个助细胞不解体,当卵细胞受精时可见有精子进入不解体的助细胞,发生助细胞受精现象[图版I:5,7]。受精后的助细胞和卵细胞分别发育成助细胞胚和合子胚[图版Ⅱ:1,2],在外形上合子胚较粗大,助细胞胚较为细小,胚内的结构与合子胚相似,具有胚芽和胚根[图版Ⅱ:3,4,5]。当种子萌发时这类型的胚相应发育为一大一小的两株苗[图版Ⅱ:6]。合子胚和助细胞胚在同一胚囊中发育时,胚的外部形态偶然见有异常现象,有些胚的形状不规则,外部常有多处凸起;有些胚在发育进程中逐渐解体。(2)有极少数的胚囊在花粉管到达珠孔时两个助细胞都不解体,在卵细胞受精时,这两个细胞分别受精,它们和合子一起发育形成成熟胚,这样便形成了两个较瘦小的助细胞胚和一个较粗大的合子胚,即三胚的现象[图版Ⅲ:1,2,3]。

3、反足细胞胚 “双-3”水稻在刚开花时,有些胚囊的反足细胞位于珠孔端,显得非常活跃,细胞多次分裂后形成半球形的反足细胞团[图版Ⅲ:7],它与戴伦焰等^[10]观察到的反足细胞团一样具有多核和核仁。随后反足细胞团渐渐变长[图版Ⅲ:8],形成反足细胞胚,在胚的一侧近边缘处出现具分生能力的组织[图版Ⅲ:9],分生组织进一步分化形成胚芽,胚芽的外围没有胚芽鞘的结构[图版Ⅲ:10],胚在合点端的部位分化形成胚根。这类胚一般比合子胚的体积大。在反足细胞发育形成胚的过程,卵细胞和助细胞逐渐解体。有些反足细胞胚在离珠孔较远的位置发育为成熟胚。

讨论

从“双-3”水稻的试验结果表明它的胚胎发生除了正常的合子胚之外还有多种胚发生的现象。

1992年赵炳然等^[7]曾观察到“双-3”水稻的合子原胚在合点端,两个细胞分开的现象。我们在本试验中观察到“双-3”水稻的合子胚在球形胚时期开始裂生,这一结果与赵炳然等的观察一致,我们还观察到裂生胚继续生长发育的各个时期,在种子成熟时裂生胚已分化形成双胚芽和一胚根。其裂生过程与美洲鹿百合(*Erythronium americanum*)植物的胚裂生现象不完全相似^[4]。

虽然水稻雄性不育系C1001的合子胚也有双胚芽和一胚根的现象,但是它与“双-3”的发生途径不同,C1001的合子胚在分化出胚芽后,在胚芽的幼叶腋发生芽原基,然后发育形成侧芽¹⁾,当种子萌发时,它们都能萌发形成双芽和一条主根。这说明在水稻出现双芽一条主根的现象中,它们的发生有不同的途径。

在慈姑属(*Sagittaria*)、还阳参属的一些种以及高山早熟禾等植物,曾报道有助细胞形成胚的现象⁴⁾。1965年吴素萱等³⁾提出水稻可能存在助细胞受精现象。赵炳然等⁷⁾在“双-3”材料中观察到助细胞受精,但没有系统地观察助细胞受精以后的发育过程。我们详细地观察了助细胞和卵细胞分别受精过程;助细胞胚和合子胚发育的各个时期以及成熟种子萌发后助细胞胚和合子胚生长为两株幼苗的一系列过程,证实了“双-3”水稻确实有助细胞受精的现象,它还能发育为助细胞胚。在同一胚囊中能同时存在助细胞胚和合子胚,因此有双胚或三胚的种子。这类型的多胚不属于无融合生殖类型。在水稻中是否存在助细胞不经过受精而直接发育为单倍体胚的现象,需待进一步研究。

水稻的反足细胞在受精前常常呈现极为活跃状态,它是否能进一步发育,从未有实验加以证实,而榆属、韭、鸭跖草等一些植物中曾观察到反足细胞可以分裂数次形成原胚状的结构,但还没有看到发育成熟的胚⁴⁾。水稻“双-3”的有些胚囊中的反足细胞特别活跃并能进一步发育分化为成熟胚,但在外形和内部结构上与徐是雄等⁵⁾描述的合子胚有较明显的差异,它的胚芽无胚芽鞘包住,而是像许多植物组织培养过程中通常见到体细胞分化形成的芽。这可能与反足细胞没有经过受精就直接发育形成胚有关。另外值得注意的是反足细胞往往位于胚囊的珠孔端或离珠孔端较近的位置。反足细胞胚发育过程中在同一胚囊中的合子胚是败育,我们未见到反足细胞胚和合子胚同时发育的现象。反足细胞胚是不经受精属于减数分裂后的单性孤雌生殖。

赵炳然等⁷⁾在观察“双-3”材料时曾提到有珠心胚现象,我们在本试验中未观察到此现象。

参考文献

- 1 邓鸿德等. 多胚水稻胚位与苗位的观察研究. 中国水稻无融合生殖研究进展, 1991: 57-60
- 2 刘向东等. 水稻多胚苗的初步研究 I. 胚胎学的观察. 福建农学院学报, 1990; 19(2): 131-137
- 3 吴素萱, 蔡起贵. 水稻(*Oryza Sativa* L.)双受精过程的细胞学观察. 植物学报, 1965; 13(2): 114-121
- 4 胡适宜. 被子植物胚胎学. 人民教育出版社, 1982: 226-229
- 5 徐是雄等. 水稻种子胚的构造及种子的初期萌发过程. 中国科学(B辑), 1983; (5): 425-430
- 6 郭学兴主编. 中国水稻无融合生殖研究进展. 四川科学技术出版社, 1991: 3-29
- 7 赵炳然等. 水稻(*Oryza Sativa* L.)双胚苗无融合生殖胚胎学研究初报. 武汉植物学研究, 1992; 10(2): 213-218
- 8 姚家琳等. 多胚水稻的不定胚起源及胚胎发育中的异常现象. 华中农业大学学报, 1991; 10(3): 233-237
- 9 蔡得田等. 高频率无融合生殖水稻的研究. 华中农业大学学报, 1991; 10(3): 223-227
- 10 戴伦培等. 水稻胚囊的形成与发育. 武汉大学学报, 1964; 2: 97-110

POLYEMBRYOGENESIS IN APOMIXIS PARENT IV OF RICE

Ye Xiulin Chen Zelian Li Yuanqing

(South China Institute of Botany, Academia sinica, Guangzhou 510650)

Abstract

More than one pollen tube entering into one embryo sac was observed after pollination in Apomixis parent IV, an indica rice twin seedling line. Zygotes of most embryo sacs developed into normal zygotic embryos, but a few zygotes developed into cleaved zygotic embryos through apical cleaving of proembryos and formed seedlings, each of which with two plumules and one radicle. In some embryo sacs, synergid cells developed into synergid embryos after fertilization. In some embryo sacs, without fertilization, antipodal cells directly developed into antipodal embryos.

Key words: Rice; Zygote embryo; Cleaved zygotic embryo; Synergid embryo; Antipodal embryo

图版说明

所有照片均为珠孔端朝下、合点端朝上排列。

e—卵细胞; sy—助细胞; ze—合子胚; se—助细胞胚; ac—反足细胞胚; p—胚芽; r—胚根。

图版 I

1. 示卵细胞和助细胞; × 330
2. 示多个花粉管进入胚囊(箭头); × 300
3. 精核与卵核接触(箭头); × 400
4. 横切面示花粉管(箭头); × 610
5. 精核与助细胞核接触(箭头); × 600
6. 精核进入卵细胞(箭头); × 250
7. 精核分别进入助细胞(箭头)和卵细胞(箭头). × 300 (此片由湖南杂交水稻研究中心制)

图版 II

图 3 为整体透明片。

1. 早期的助细胞胚和合子胚; × 180

2. 助细胞胚和合子胚开始分化; $\times 160$
3. 种子中成熟的助细胞胚和合子胚; $\times 70$
4. 萌发的种子示双胚芽和双胚根; $\times 7$
5. 从一萌发种子分离出两个独立的幼苗; $\times 7$
6. 示萌发后的双胚苗. $\times 1.8$

图版 III

图 1-3 为整体透明片; 示不同发育阶段的三胚, 其中两个助细胞胚和一个合子胚。

1. 早期三胚; $\times 170$
2. 开始分化的三胚; $\times 160$
3. 种子中成熟的三胚; $\times 35$

图 4-6 示合子胚裂生的不同发育阶段。

4. 球形胚时期胚的顶部分开(箭头); $\times 160$ (本片由湖南杂交水稻研究中心制)。
5. 心形期的裂生胚; $\times 170$
6. 裂生胚分化出两个胚芽和一条胚根。

图 7-11 示反足细胞胚的发育过程。

7. 珠孔端的反足细胞团和卵细胞; $\times 170$
8. 反足细胞分裂, 细胞数目增加; $\times 600$
9. 反足细胞团出现分生组织(箭头); $\times 170$
10. 反足细胞团的分生组织开始分化; $\times 150$
11. 反足细胞胚. $\times 160$

Explanation of plates

All figures are arranged so that the micropylar ends point to the down side and the chalazal ends to the up side.
 e—egg cell; sy—synergid; ze—zygotic embryo; se—synergid embryo;
 ae—antipodal embryo; p—plumule; r—radicle.

Plate I

1. Showing egg cell and synergid; $\times 330$
2. The pollen tube (arrow); $\times 300$
3. Sperm nucleus and egg nucleus come into contact with each other (arrow); $\times 400$
4. Cross section showing pollen tube (arrow); $\times 610$
5. Cross section sperm nucleus and synergid nucleus come into contact with each other (arrow); $\times 600$
6. Sperm nucleus entering into egg cell (arrow); $\times 250$
7. Sperm nuclei entering into egg cell and synergid (arrow) respectively. $\times 300$

Plate II

Fig.3 Materials treated with whole stain-clearing technique.

1. Zygotic embryo and synergid embryo in early stage; $\times 180$
2. Zygotic embryo and synergid embryo begin differentiation; $\times 160$
3. Mature zygotic embryo and synergid embryo in a seed; $\times 70$
4. Two plumules and two radicles coming from a germinating seed; $\times 7$
5. Two independent seedlings were separated from a germinating seed; $\times 7$
6. Twin seedlings.

Plate III

Fig. 1-3 Materials treated with whole stain-clearing technique, showing three embryos (zygotic embryo and two synergids embryos).

1. Three embryos in early stage; $\times 170$
2. Three embryos with differentiation; $\times 160$
3. Three mature embryos in a seed; $\times 35$

Fig. 4-6 Showing cleavage embryogeny.

4. The terminal cells of globose embryo are ramify; $\times 160$
5. Cleavage embryo of hart shap stage; $\times 170$
6. A cleaved embryo differentiated two plumules and one radicle; $\times 170$

Fig. 7-11 Showing antipodal embryogeny.

7. Egg cell and antipodal cells located in micropylar end; $\times 170$
8. Antipodal cells being divided; $\times 600$
9. Showing meristem in antipodal cells; $\times 170$
10. The differentiation of meristem of antipodal embryo began; $\times 150$
11. Showing antipodal embryo. $\times 160$