

矮沙冬青小孢子发生和雄配子体发育的观察

周江菊^{1,2}, 唐源江¹, 廖景平^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 贵州师范大学凯里学院生物科学技术系, 贵州 凯里 556000)

摘要: 对矮沙冬青(*Ammopiptanthus nanus*)小孢子发生及雄配子体发育过程进行了观察, 结果表明: 花药具 4 个花粉囊, 花药壁发育为基本型, 由表皮、药室内壁、中层(2-3 层)和绒毡层组成, 绒毡层为腺质型。小孢子母细胞减数分裂后胞质分裂为同时型, 四分体为四面体型排列, 成熟的花粉粒为二细胞型。在矮沙冬青小孢子发生及雄配子体发育过程中没有发现异常现象, 认为矮沙冬青濒危不存在雄性生殖结构与发育过程异常的内在因素。

关键词: 矮沙冬青; 小孢子发生; 雄配子体; 濒危植物

中图分类号: Q944.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2005)04-0285-06

Microsporogenesis and the Development of Microgametophyte of *Ammopiptanthus nanus*

ZHOU Jiang-ju^{1,2}, TANG Yuan-jiang¹, LIAO Jing-ping^{1*}

(1. Shouth China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Department of Biological Science and Biotechnology, Kaili College of Guizhou Normal University, Kaili 556000, China)

Abstract: The anther of an endangered species, *Ammopiptanthus nanus* (M. Pop.) Cheng f., is tetrasporangiate. The anther wall is of basic type in the development, which comprises epidermis, fibrous endothecium, middle layer and glandular tapetum. The microspore mother cells undergo meiosis, and the cytokinesis is simultaneous. The tetrads are tetrahedral. Mature pollen grains are two-celled at the dispersal stage. The abnormal development is not found in microsporogenesis and in development of microgametophyte of the species. It is suggested that the endangerment of the species is not related to the microsporogenesis and microgametophyte development.

Key words: *Ammopiptanthus nanus*; Microsporogenesis; Microgametophyte; Endangered plant

矮沙冬青 *Ammopiptanthus nanus* (M. Pop.) Cheng f. 又叫新疆沙冬青、小沙冬青、矮黄花木, 隶属于豆科沙冬青属, 是亚洲中部荒漠特有的常绿阔叶小灌木。在我国仅见于海拔 2 100-2 400 m 的新疆喀什地区南部昆仑山与帕米尔交界的狭窄地带^[1], 为第三纪孑遗种, 已列入我国第一批珍稀濒危保护植物名录中, 属于沙区珍稀濒危植物^[2]。此属仅有 2 种, 长期在严酷恶劣的自然条件下繁衍、进化, 具有抗热、抗寒、抗旱、抗风沙、耐盐碱、耐贫瘠的特性, 是沙漠中唯一的常绿阔叶树种。迄今为止, 关于沙冬青属植物的研究, 大多集中于对沙冬青 (*A. mongolicus*) 抗旱和抗寒机理^[3]、小孢子发育的超微结构^[4]、大小

孢子发生与雌雄配子体发育^[5]等的研究, 而对矮沙冬青的研究较少, 主要集中在引种栽培试验^[6]、减数分裂期染色体行为观察^[7]等的方面。作者对小孢子发生及雄配子体发育进行观察, 为矮沙冬青胚胎学研究增添新的资料, 同时也探讨其雄性生殖结构和发育过程是否与濒危相关。

1 材料和方法

研究材料矮沙冬青采自新疆维吾尔自治区乌恰县巴音库鲁提 (39°50'N, 75°35'E, 2 100 m) 和睥尔托阔依 (39°30'N, 74°51'E, 2 700 m)。凭证标本:

收稿日期: 2005-03-21 接受日期: 2005-05-26

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KSCX2-SW-104)资助

* 通讯作者 Corresponding author

葛学军 075, 存中国科学院华南植物园标本馆 (IBSC)。2003 和 2004 年 3 月上旬至 4 月下旬, 每隔 2-3 d 采集不同发育时期的花, 至开花为止。材料用卡诺液固定后转入 75% 酒精中保存。爱氏苏木精整体染色, 常规石蜡切片, 厚度 8 μm 。用 Axioplan 2 光学显微镜观察和数码拍照 (配套使用 Axio Vision Rel. 4.2 软件)。

2 观察结果

矮沙冬青具总状花序, 蝶形花冠, 龙骨瓣分离, 雄蕊 10 枚, 胚珠 2-6 枚, 荚果。

2.1 花药壁的发育

3 月上旬, 花药分化出四个花粉囊。孢原细胞起源于雄蕊原基表皮下, 经平周分裂形成初生壁细胞和初生造孢细胞, 初生壁细胞 (周缘细胞) 经平周分裂形成 2 层同心圆排列的次生壁细胞 (图版 I: 1)。当小孢子母细胞即将进行减数分裂时, 次生壁细胞进一步平周分裂至花药壁分化完全, 其发育为基本型^[9], 从外到内分别为表皮、药室内壁、中层 (2-3 层) 和绒毡层细胞 (图版 I: 2)。随着小孢子母细胞的减数分裂, 中层细胞由内向外逐层解体, 而在小孢子母细胞减数分裂期间, 绒毡层细胞体积大、核大、细胞质浓 (图版 I: 3, 6, 7, 8), 至小孢子四分体形成时绒毡层细胞开始解体 (图版 II: 9)。当单核花粉粒形成后, 药室内壁细胞的细胞壁出现纤维状加厚 (图版 II: 10)。二细胞花粉粒形成时, 中层细胞几乎全部解体。随着花粉粒成熟, 绒毡层细胞也完全解体, 此时的药壁只剩下皱缩的表皮和增厚的药室内壁 (即纤维层) (图版 II: 13, 14)。绒毡层在整个发育过程中始终维持在原来的位置, 属于腺质型。

2.2 小孢子的发生及雄配子体发育

2.2.1 小孢子的发生

至 3 月上旬, 由孢原细胞进行分裂产生的初生造孢细胞经多次分裂后形成次生造孢细胞 (图版 I: 1), 当次生造孢细胞发育至小孢子母细胞时, 体积明显增大 (图版 I: 2)。小孢子母细胞经过减数分裂 (图版 I: 3-8) 发育成小孢子四分体。由于在小孢子母细胞减数分裂末期 I 后 (图版 I: 6), 两核间不伴随细胞板的形成, 因此, 小孢子母细胞胞质分裂为同时型。四分体有共同的胼胝质包围, 小孢子在四分体中为四面体排列 (图版 II: 9)。四分体胼胝质融解后, 4 个单核小孢子彼此分离。刚从四分体释放

出来的小孢子, 细胞壁薄, 细胞核几乎位于细胞中央, 具有小液泡 (图版 II: 10)。

同一朵花不同花药或同一花药的四个不同花粉囊, 以及同一花粉囊内的小孢子母细胞减数分裂有不同步现象, 同一分裂时期的细胞相对集中在一起 (图版 I: 7)。

2.2.2 雄配子体发育

随着小孢子的不断发育, 细胞核靠边, 细胞壁加厚, 出现萌发孔 (图版 II: 11), 每个小孢子具有 3 个萌发孔, 即单核花粉粒发育晚期。接着其细胞核进行有丝分裂, 形成 2 个核, 一个大的营养核和一个靠壁生殖核, 并在二核之间形成细胞板, 将细胞质分割为不均等的两部分, 发育为二细胞花粉粒 (图版 II: 12), 其中生殖细胞体积小, 紧靠花粉壁, 营养细胞体积大, 核位于花粉的中央。随着花粉粒的不断成熟发育为雄配子体 (图版 II: 13, 14)。

小孢子及雄配子体发育与花药壁结构各时期的对应关系见表 1。

3 讨论

观察表明, 矮沙冬青花药具有 4 个花粉囊, 花药壁发育为基本型, 绒毡层为腺质型, 绒毡层的发育和退化时期正常; 小孢子母细胞的胞质分裂为同时型, 同一药室内, 小孢子母细胞减数分裂出现不同步现象, 小孢子四分体为四面体型排列, 成熟的花粉粒为二细胞型。这些特征均与同属植物沙冬青的特征十分相似^[9], 但矮沙冬青小孢子四分体全为四面体排列, 无左右排列型等其它类型。

植物的有性生殖对于其生命的延续和种群的拓展起着决定性的作用, 该过程的任何一个环节出现障碍, 都会造成生殖的失败, 引起植物濒危^[9-16]。宋娟娟等^[7]对矮沙冬青减数分裂染色体行为进行了观察, 结果表明其减数分裂染色体行为没有异常现象, 而且就其小孢子形态来看不育的可能性微乎其微, 从而认为矮沙冬青濒危不是染色体行为异常造成的。

我们对矮沙冬青小孢子发生和雄配子体发育过程进行了观察, 结果也没有发现异常现象, 结构上也未见败育, 因此认为矮沙冬青濒危不存在雄性生殖结构与发育过程异常等内在因素, 而矮沙冬青雌性生殖结构与发育过程中是否存在异常而且与濒危是否直接相关, 有待进一步研究。

致谢 本文的实验制片工作由中国科学院华南植物园邵耘女士完成, 谨此致谢!

表1 小孢子及雄配子体发育与花药壁结构各时期的对应关系
Table 1 Microsporogenesis and the development of microgametophyte and anther wall

时间 (日/月) Date (D/M)	小孢子发生及雄配子体 形成各时期 Stages	花药壁结构 (层) Anther wall (layers)			
		表皮 (1) Epidermis (1)	药室内壁 (1) Endothecium (1)	中层 (2-3) Middle layers (2-3)	绒毡层 (1) Tapetum (1)
6/3-10/3	次生造孢细胞时期 Secondary sporogenous cells	矩形, 切向加长 Rectangular, tangentially elongated		矩形, 切向加长 Rectangular, tangentially elongated	
11/3-15/3	小孢子母细胞时期 Microspore mother cells	矩形, 切向加长 Rectangular, tangentially elongated	矩形, 切向加长 Rectangular, tangentially elongated	细胞狭长 Narrow	已经分化 Differentiated
16/3-25/3	减数分裂时期 Meiosis	矩形 Rectangular	矩形 Rectangular	开始退化 Starting to degenerate	细胞质浓 Cytoplasm strong
21/3-25/3	小孢子四分体时期 Microspore tetrad	扁平, 切向加长 Flattened, tangentially elongated	近方形, 径向加长 Nearly square, radially elongated	内层已经退化 Innermost layer degenerated	开始解体 Beginning to degenerate
26/3-31/3	游离小孢子时期 Free microspore	扁平, 切向加长 Flattened, tangentially elongated	径向加长, 细胞壁带状加厚 Radially elongated, cell wall thickened	外2层几乎退化 Outermost 2 layers almost degenerated	小部分解体 Partially degenerate
1/4-5/4	二细胞花粉粒时期 Two-celled pollen grains	扁平 Flattened	细胞壁带状加厚 Cell wall thickened	退化, 留有残迹 Degenerated	大部分已经解体 Mostly degenerated
5/4-10/4	成熟花粉粒时期 (雄配子体时期) Mature pollen grains (microgametophyte)	皱缩 Compressed	细胞壁带状加厚 Cell wall thickened	完全退化 Completely degenerated	完全解体 Completely degenerated

参考文献

- [1] Cui H B (崔鸿宾). Leguminosae. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Vol. 42(2) [M]. Beijing: Science Press, 1998. 394-397. (in Chinese)
- [2] National Environment Protection Bureau (国家环境保护局), Institute of Botany, Academia Sinica (中国科学院植物研究所). The Rare and Endangered Plants of China [M]. Shanghai: Shanghai Educational Press, 1989. 183-185. (in Chinese)
- [3] Zhou Y J (周宜君), Liu C L (刘春兰), Feng J Z (冯金朝), et al. Advances in the studies of drought and cold resistance of *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. J Des Res (中国沙漠), 2001, 21 (3):312-316. (in Chinese)
- [4] Li Y (李勇), Tu L Z (屠骊珠), Zhu Y (朱宇), et al. An ultrastructural study of the microspore development of *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. Acta Sci Nat Univ NeiMenggu (内蒙古大学学报自然科学版), 1994, 25(2):190-195. (in Chinese)
- [5] Han X M (韩雪梅), Tu L Z (屠骊珠). Studies on the development of mega and microsporogenesis and male and female gametogenesis of *Ammopiptanthus nanus* [J]. Acta Sci Nat Univ NeiMenggu (内蒙古大学学报自然科学版), 1991, 22(1):119-126. (in Chinese)
- [6] Gao Z H (高志海), Liu S L (刘生龙), Zhong S J (仲述军), et al. Experiments on the introduction and cultivation of *Ammopiptanthus nanus* [J]. J Gansu For Sci Tech (甘肃林业科技), 1995, (1): 28-31. (in Chinese)
- [7] Song J J (宋娟娟), Tang Y J (唐源江), Liao J P (廖景平), et al. Observation on the chromosome behavior at meiosis of *Ammopiptanthus nanus* [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2003, 11 (2):166-168. (in Chinese)
- [8] Hu S Y (胡适宜). Embryology of Angiosperm [M]. Beijing: Higher Educational Press, 1985. 20-64. (in Chinese)
- [9] Liu S L (刘生龙), Wang L D (王理德), Gao Z H (高志海). Introduction of eight endangered or rare plant species in Minqin Desert area [J]. J Gansu For Sci Tech (甘肃林业科技), 1995, 3:10-14. (in Chinese)
- [10] Liu L D (刘林德), Wang Z L (王仲礼), Tian G W (田国伟), et al. Observation on floral morphology and heteranthery of *Eleutherococcus senticosus* (Araliaceae) [J]. Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 1997, 35(1):1-6. (in Chinese)
- [11] Zhang S Z (张寿洲), Pan K Y (潘开玉), Zhang D M (张大明). Observation on abnormal meiosis of pollen mother cells in *Paeonia suffruticosa* subsp. *spontanea* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1997, 39(5):397-404. (in Chinese)
- [12] He T H (何田华), Rao G Y (饶广远), You R L (尤瑞麟).

- Embryological studies on endangered *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae) [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), 1998, 36 (4): 305–309. (in Chinese)
- [13] Liu L D (刘林德), Wang Z L (王仲礼), Tian G W (田国伟), et al. Megasporegenesis, microsporegenesis and development of gametophytes in *Eleutherococcus senticosus* (Araliaceae) [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), 1998, 36(4):289–297. (in Chinese)
- [14] Nu Y X (鲁元学), Wu Q A (武全安), Gong X (龚洵), et al. Study on the sexual reproduction and biological characteristics of *Manglietia insignis* [J]. *Guihaia* (广西植物), 1999, 19(3):267–271. (in Chinese)
- [15] Pan Y Z (潘跃芝), Gong X (龚洵), Lian H X (梁汉兴). Studies on formation of microspores and development of male gametes in *Manglietia insignis* [J]. *Acta Bot Yunnanica* (云南植物研究), 2001, 23(1):85–90. (in Chinese)
- [16] Gao R M (高润梅). Advance in the study on embryology of rare and endangered plants [J]. *J Shanxi Agric Univ* (山西农业大学学报), 2002, 3:239–245. (in Chinese)

图版说明

1–2 和 9–10 为花药横切面; 3–8 和 11–14 为花药纵切面; 标尺长度为 20 μm 。▲ 示花药壁的壁层结构, ↑ 示各时期的小孢子发生及雄配子体形成。

图版 I

- 4 个花粉囊, 示 2 层壁层细胞和造孢细胞;
- 5–6 层花药壁, 包含表皮细胞 (1 层)、药室内壁 (1 层)、中层 (2–3 层)、绒毡层 (1 层), 小孢子母细胞;
- 小孢子母细胞减数分裂中期 I, 绒毡层细胞质浓、中层开始退化;
- 减数分裂后期 I (早);
- 减数分裂后期 I (晚);
- 减数分裂末期 I (早和晚), 绒毡层细胞质浓;
- 减数分裂中期 II 和后期 II, 绒毡层细胞质浓;
- 减数分裂末期 II, 绒毡层细胞质浓。

图版 II

- 四分体, 中层的内层细胞已经退化, 绒毡层细胞开始分离解体;
- 游离小孢子, 药室内壁细胞壁带状加厚;
- 晚期的小孢子;
- 二细胞花粉粒;
- 成熟花粉粒, 中层和绒毡层全部解体;
- 成熟花粉粒, 花药壁只剩 2 层细胞。

Explanation of plates

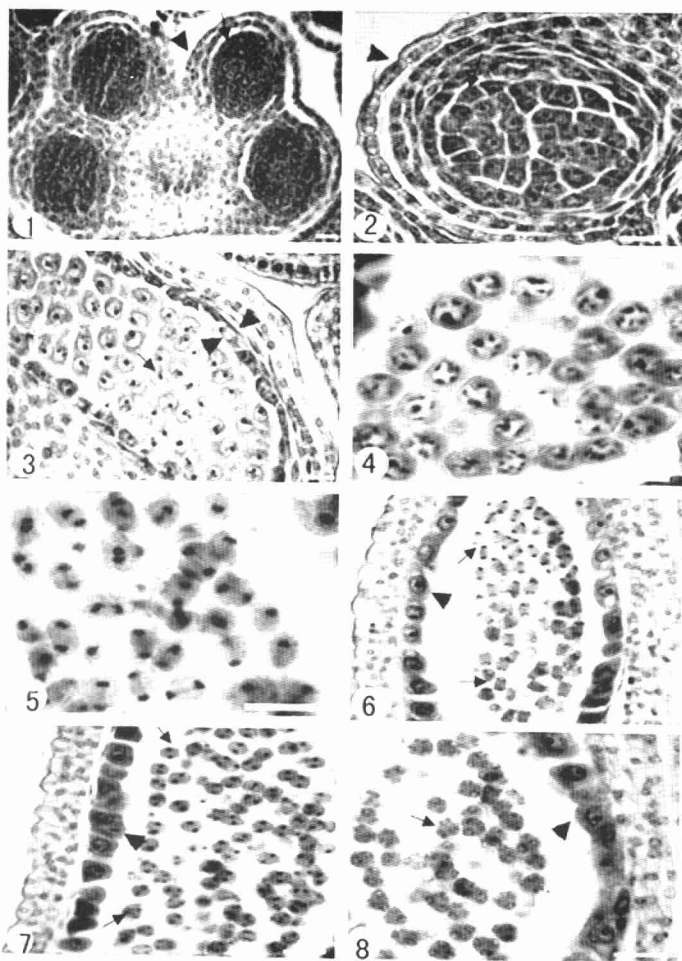
Figs 1, 2, 9 and 10 are transverse section of anther. Figs 3–8 and 11–14 are longitudinal section of anther. ▲ showing the structure of anther wall, ↑ showing different stages of microsporegenesis and microgametophyte development. bar= 20 μm .

Plate I

- Tetrasporangium, showing 2 layers of parietal and sporogenous cells;
- 5–6 layers of anther wall: epidermis (1-layer), endothecium (1 layer), middle layers (2–3 layers), tapetum (1 layer) and microspore mother cells;
- Microspore mother cells in meiosis, showing metaphase I, dense cytoplasm in tapetum, and the middle layers beginning to degenerate;
- Anaphase I (early);
- Anaphase I (late);
- Telophase I (early and late), dense cytoplasm in tapetum;
- Metaphase II, anaphase II, dense cytoplasm in tapetum;
- Telophase II, dense cytoplasm in tapetum.

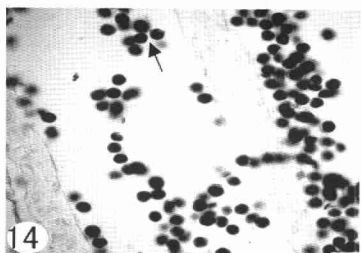
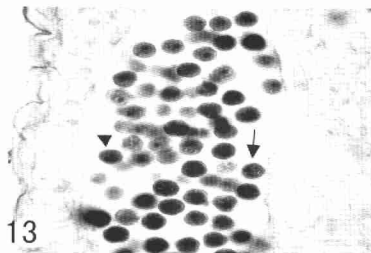
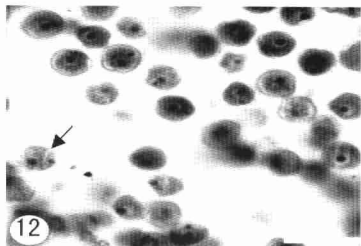
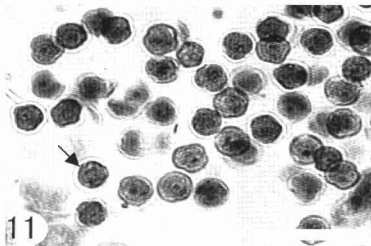
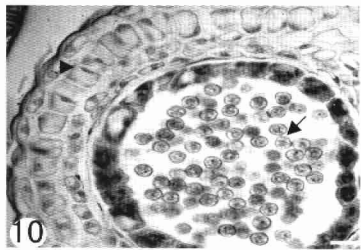
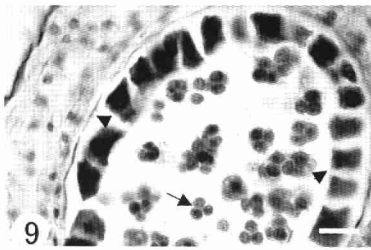
Plate II

- Microspore tetrad, the innermost layer of middle layers degenerated and the tapetum beginning to degenerate;
- Free microspore, cell wall thickened in endothecium;
- Mature microspore (late);
- 2-celled pollen grains;
- Mature pollen grains, the middle layers and tapetum are all degenerated;
- Mature pollen grains.



周江菊等: 图版 1

ZHOU Jiang-ju et al.: Plate 1



周江菊等:图版 II