

橡胶树花药和小孢子发生与发育过程的观察

谢石文 邱德勃 王哲魁 孔维明

(华南热带作物学院热带作物系 海南省儋县 571737)

摘 要

应用石蜡切片法,观察橡胶树的实生树和 RRIM600、GT-1 品系的花药壁以及小孢子的发生和发育过程,得到如下结果:1. 实生树的花药壁通常由四层细胞组成,发育形式为双子叶型。药室内壁细胞在发育后期进行径向条纹加厚,至花药开裂时仍保留着原生质体。中层由一层或不规则的两层细胞组成,在小孢子单核期消失。绒毡层细胞具单核或双核,属分泌型,至花粉发育到三细胞时消失。小孢子母细胞减数分裂为同时型。成熟花粉粒具三个细胞。精细胞椭圆形,在光镜下不能区分出细胞质鞘和核仁。所观察的实生树雄花,多数发育正常,很少有空秕的花粉。2. RRIM600 品系的花药和小孢子发生与发育和实生树相似,但至后期只有少数花粉发育正常,多数成为大小不等的败育花粉;此外也有一些败育的雄花。3. GT-1 的花药在小孢子母细胞减数分裂时,绒毡层细胞的体积开始异常增大并液泡化,小孢子在四分体内解体或分离后成为空秕花粉。

关键词: 橡胶树; 花药; 小孢子

前 言

有关橡胶树花粉形态及其发生过程,很早就有一些报道。Majumder 描述了橡胶树花粉在体内和在多种人工培养液中的萌发情况^[7], Conajin 用压片法观察了二倍体和同源四倍体橡胶树的小孢子母细胞减数分裂情况,并得出同源四倍体橡胶树为雄性不育的结论^[5]。赵淑娟^[2,3]对橡胶树小孢子母细胞的减数分裂和雄配子体的形成,以及 GT-1 花粉的败育情况作了压片观察。此外谢石文^[4]对橡胶树花粉的发育时期也做过压片鉴定。随着橡胶树有性育种和变倍育种工作的进展以及教学上的需要,我们用石蜡切片法观察橡胶树的实生树、RRIM600、GT-1 品系的花药壁层和小孢子的发生及发育过程,同时观察花粉发育各阶段与雄花长度的相应关系,为橡胶树的育种及教学工作提供参考。

* 本研究为国家自然科学基金资助课题

** 参加本研究工作的还有我院毕业生罗世巧、罗科、王文英、龙正英

材料与amp;方法

本实验所用的实生树雄花从学院校园采得, RRIM600 和 GT-1 品系的雄花采自学院试验农场九队胶园, 各品系的雄花都固定在同一株树上和用不同时间采取。当二月中旬花芽萌动后, 于上午九至十时开始采集 0.5mm 左右长 (不包括小花梗, 下同) 的雄花, 以后随着花序的发育, 陆续在上午九至十时采集由小至即将开放的雄花, 并按其不同长度分别用 FAA 液固定, 然后再在低倍显微镜下用测微尺较准确地测量花的长度, 并分装在容器中备用。用常规的石蜡切片法进行制片, 切片厚度为 10—12 μm , 主要进行横切, 铁矾苏木精染色, Olympus BH-2 研究显微镜观察和摄影。

观察结果

一、雄花的形态

所观察的三个品系的花为单性同序, 即在一圆锥花序上, 多数花为雄花, 只有花序主轴的顶花及其第一次分枝的顶花为雌花。即将开放的雄花长为 5.0—5.5mm; 花被单层、钟状五裂, 成熟时黄色; 花丝联合成柱状, 花药 10 枚分两层着生花丝柱中部, 花药具四个花粉囊。成熟花粉粒含三个细胞。GT-1 品系的雄花形态与一般雄花相同, 但当花被略呈黄色并尚未开放时即行脱落, 脱落时的雄花长度只有 2.5—3.0mm。

二、实生树花药和小孢子的发生及发育过程

(一)、小孢子发生和雄配子体的形成

发育初期的花药在横切面上呈扇形或椭圆形。当幼嫩花药外侧凹入成两个裂瓣时, 在每个裂瓣外侧二角隅处的表皮下分化出一个孢原细胞 (图版 I, 1)。孢原细胞的体积较大、核仁明显、径向壁显著延长。雄花长度达 1.0—1.4mm 时, 花药每个裂瓣的外侧又出现一个较浅的凹陷, 形成四个花粉囊的雏形。此时孢原细胞平周分裂产生外方的初生壁细胞和内方的初生造孢细胞 (图版 I, 2)。初生造孢细胞体积较大, 棱角明显 (图版 I, 2、3) 经少量增殖后, 逐渐变圆而发育成小孢子母细胞 (图版 I, 4), 此时期的花长为 1.3—1.8mm。小孢子母细胞在发育后期逐步出现胼胝质壁, 并开始进行同时型的减数分裂 (图版 I, 5—7)。雄花长达 1.7—2.0mm 时, 减数分裂已经完成。四分体分离后的早期小孢子均收缩成不规则的形状 (图版 I, 8)。至单核靠边期时成为圆形或椭圆形 (图版 I, 9)。当雄花长达 2.5—3.8mm 时, 小孢子进行有丝分裂, 产生一个较小的生殖细胞和一个较大的营养细胞, 两者间形成一弓形隔壁 (图版 I, 10)。不久, 弓形隔壁消失, 营养细胞的大液泡也分散成小液泡, 发育成后期的二细胞花粉 (图版 I, 11), 其中的营养核边缘呈凹凸不平的形状, 核仁明显。而生殖细胞的核仁则变得不明显。当雄花长达 3.8mm 左右时, 花被开始变为浅黄色, 此时生殖细胞便进行有丝分裂而发育成三细胞花粉 (图版 I, 12), 其中的营养核直径约 7 μm , 有一个着色深的核仁; 两个精细胞常为椭圆形, 直径只有 3 μm ,

在光镜下看不到细胞质鞘和核仁。

(二)、花药壁的分化

孢原细胞平周分裂后，向外产生的初生壁细胞继而进行平周和垂周分裂，形成表皮下方的两层壁细胞。外层壁细胞接着又进行一次平周分裂（图版 I, 3），形成一层药室内壁和一层中层细胞；内层的壁细胞一般只进行垂周分裂而直接发育成绒毡层，所以花药壁的发育属双子叶型^[6]。但中层细胞有时进行不规则的平周分裂，产生不规则的两层中层细胞（图版 I, 5）。在造孢细胞发育后期，花药壁的细胞层次已达到稳定。

在小孢子母细胞减数分裂即将完成时，靠近花药裂口处的 8—10 个表皮细胞，其体积略为增大而发育成不甚发达的唇细胞。其他表皮细胞随着花药的成熟，逐渐变小，但仍保留稀薄的原生质体。药室内壁细胞在花粉发育至二细胞期时，体积增大最快，明显径向伸长并出现条纹加厚。此层细胞至花药开裂时仍保留着原生质体。中层细胞在小孢子母细胞减数分裂中、后期开始收缩变小，至小孢子发育到单核靠边期消失。绒毡层属分泌型，1—2 核，无明显的液泡，在小孢子母细胞减数分裂开始时体积达到最大，至花粉发育到三细胞时才全部消失。

(三)、在所观察的正常发育的花中，极少有败育花粉。但在一花序中也有少数（具体数量未统计）雄花是完全败育的。这些败育雄花的药壁形态有两种情况，一是绒毡层细胞在发育后期异常增大、高度液泡化，有些绒毡层细胞看不到原生质体而呈空泡状。另一情况为花药壁层的发育和形态与正常的花药相似，但花粉囊内全为大小不等的空秕皱缩花粉（图版 I, 13）。

三、RRIM600 品系的花药和小孢子发生与发育

RRIM 600 品系小孢子发生和发育情况，在小孢子四分体以前的发育阶段和实生树相同。但当四分体分离后，只有少数的小孢子才能进一步发育至成熟，多数的则成为空秕皱缩的败育花粉。在小孢子单核期的切片中，普遍可看到这些败育的小孢子大小不等（图版 I, 14），最为有趣的是，在一些花粉囊内还看到具有 2—4 个细胞核的特殊结构（图版 I, 15—16）。在二细胞期花粉的花药切片中，正常发育的花粉数量极少（图版 I, 17）。成熟花药中，正常发育的花粉约占 13—27%（图版 I, 18）。

在花序中还有一些雄花在发育后期全部败育（具体数量未统计），败育的花药皱缩状，花药壁的形态与正常的花药相似，但花粉囊内全为空秕皱缩的花粉。

四、GT-1 品系的花药和小孢子发生与发育

GT-1 品系的小孢子发生，在小孢子母细胞减数分裂以前的阶段是正常的，同样产生四面体型的四分体。但当小孢子母细胞减数分裂开始时，绒毡层细胞开始异常增大，径向壁明显伸长并液泡化（图版 I, 19—20），细胞质逐渐变得稀薄，有的甚至成透明的空泡状（图版 I, 24）。这种绒毡层细胞到雄花掉落时依然存在。关于药室内壁的形态和小孢子的命运有两种情况，一是药室内壁细胞至雄花掉落时体积仍然很小（图版 I, 21、22、24），小孢子或在四分体内解体（图版 I, 21、24），或从四分体分离后成为空秕皱缩的花粉（图版 I, 22）。另一种情况是药室内壁细胞体积增大，径向壁伸长，在狭小的花粉囊腔内全为空秕皱缩的小孢子（图版 I, 23）。

讨 论

1. 在实生树和其他品系的石蜡制片中,都观察到四分体后期和单核早期的小孢子收缩成各种形状,当小孢子产生液泡后便又逐步变圆的现象。这种情况和水稻^[6]、小麦^[1]等作物的早期小孢子的收缩情况相似,水稻^[6]作者称之为“收缩期”。我们曾反复采用新鲜材料和经多种固定液固定的橡胶雄花进行压片观察,始终都没有看到这一收缩现象。所以橡胶树早期小孢子的收缩现象必定是在石蜡制片过程中,由于人为因素的影响所致,并不是它们本身固有的特性。

2. 根据所观察的材料,实生树的花粉发育最为正常,很小有空秕的花粉。但在其花序上也有一些败育的雄花。由于实生树是从各种品系的种子直接繁殖而产生的植株,本实验所用的材料究竟是哪个品系的实生树,现在无法进行考查。我们推测不同品系的种子所产生的实生树,其小孢子的发育情况必定有所差别。因此本文对实生树所描述的情况,可能没有广泛的代表性。

3. RRIM600 品系的正常发育的雄花中,只有少数花粉发育至成熟,多数是空秕的。在这些败育的花粉中,形态各异,特别是有些败育花粉具有 2—4 个细胞核的奇特结构。产生这种现象的原因一定是个有趣的问题,值得进一步观察。

4. 根据观察,GT-1 是一雄性不育系,其花粉发育的异常情况,一方面是小孢子分离后不能进一步发育,最后形成空秕的花粉。此情况和赵淑娟^[3]所观察到的现象相似。我们还看到有些小孢子在四分体时期就溶化解体,因此用压片法观察即将脱落的 GT-1 雄花时,有一部分压片就看不到干缩的小孢子。另一方面是花药壁的发育和形态较特殊。特别是绒毡层细胞异常增大、液泡化,有的甚至失去原生质体,此外这层细胞在小孢子母细胞减数分裂期间不象正常发育的绒毡层那样收缩变小,反而继续增大。可能绒毡层细胞的异常情况是 GT-1 品系雄性不育的主要原因。

参 考 文 献

- [1] 北京大学生物系植物遗传育种专业,雄性不育和雄性能育小麦花药和花粉发育的细胞形态学观察。植物学报,1976,18(2):141—149。
- [2] 赵淑娟,橡胶树的花粉发育过程。热带作物学报,1985,8(1):127—130。
- [3] 赵淑娟,GT-1 花粉发育观察。热带作物学报,1985,8(2):25—27。
- [4] 谢石文,巴西橡胶花粉发育时期的鉴定。热带作物学报,1985,8(2):21—24。
- [5] Conagin, H. T. M., Microsporogenesis in normal and tetraploid *Hevea brasiliensis* (in Spanish), *Bragantia*, 1971, 30(2): 11—17.
- [6] Davis, G. L., Systematic embryology of the angiosperms. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1966, 9—11.
- [7] Majumder, S. K., Studies on the germination of pollen of *Hevea brasiliensis* in vivo and on artificial media. *Jour. RRIM*, 1964, 18(4): 185—193.
- [8] 木原等,稻花粉粒の发达。日本《农业及园艺》,1942,17(6):685—690。

OBSERVATION ON THE DEVELOPMENT OF ANTHER AND MICROSPORE IN *HEVEA BRASILIENSIS*

Xie Shiwen, Qiu Debo, Wang Zhekui and Kong Weiming

(South China College of Tropical Crops, Haianmdao 571737)

Abstract

The development of anther and microspore in *Hevea* seedling and in *Hevea* clones RRIM 600 and GT-1 were observed, and the results are as follows: 1. Anther wall of seedling tree consists of four layers of cells and its formation is of dicotyledonous type. In later development stages some fibrous thickenings appear on the walls of endothecium cells, in which the protoplast remains until anther dehiscence. The middle layer consists of one layer of cells or two layers of irregular cells and disappears in monokaryon stage. Tapetal cells being of secretory type have one or two nuclei and disappear in 3-celled stage. Meiosis of microspore mother cell is of simultaneous type. The mature pollen comprises three cells, among them the sperm cells are spherical in shape and the cytoplasmic sheath and nucleolus are unable to be recognized under light microscope. 2. In RRIM600 the development of microspore is similar to that in the seedling tree, but in the later stage most of them become aborted pollens with different sizes and only a few grow normally; besides, some flowers degenerate entirely. 3. For GT-1, in the meiosis stage of microspore mother cell, the tapetal cells become peculiarly enlarged and vacuolated, as the result, the microspores disintegrate inside the tetrad or segregate into empty pollens.

Key words: *Hevea brasiliensis*; Anther; Microspore

图版说明

图版 I

实生树花药横切面照片。1. 孢原细胞(箭头)发生期。×268; 2. 示初生壁细胞(箭头)和初生造孢细胞(双箭头)。×268; 3. 由初生壁细胞产生的内外两层细胞, 外层细胞处于平周分裂中期(箭头)。×134; 4. 示小孢子母细胞和花药壁层。×134; 5. 小孢子母细胞减数分裂, 绒毡层细胞体积达到最大。×134; 6. 减数分裂末期 I, 绒毡层细胞开始收缩变小。×134; 7. 示四分体。×268; 8. 刚从四分体分离后的小孢子收缩成各种形状。×134; 9. 单核靠边期的小孢子。×268; 10. 二细胞花粉, 示生殖细胞和营养细胞间的弓形隔壁。×268; 11. 二细胞花粉。×268; 12. 三细胞花粉。×268; 13. 败育雄花的花药。×134。

图版 I

14—18. 为 RRIM600 花药横切面照片。19—24. 为 GT-1 花药横切面照片。14. 小孢子处于单核靠边期的花药, 示大小不等的败育小孢子。×134; 15—16. 小孢子处于单核靠边期的花药, 示花粉囊内具 2—3 核的特殊结构。×134; 17. 二细胞期花粉的花药, 只有一个花粉粒正常发育。×134; 18. 三细胞期花粉的花药, 只有两个花粉粒正常发育。×134; 19—20. 小孢子母细胞减数分裂; 绒毡层细胞体积增大, 液泡化, 不收缩变小。×134; 21. 药室内壁细胞体

积较小, 绒毡层细胞异常增大, 花粉囊腔狭小, 四分体溶化解体。×134; 22. 花药壁和 21 图相同, 示空秕的小孢子。×134; 23. 药室内壁细胞和绒毡层细胞同时增大, 花粉囊内为空秕小孢子。×134; 24. 绒毡层细胞异常增大, 有些则失去原生质体, 花粉囊内为四分体溶化解体的形态。×134。

Explanation of plates

Plate I

Micrographs of transverse section of seedling anther. Fig. 1. Occurrence of archesporial cell (arrow). ×268; Fig. 2. Primary parietal cell (PPC) and primary sporogenous cell. ×268; Fig. 3. Both the outer and inner layer cells originated from PPC, of which the outer layer cell is in metaphase of periclinal division (arrow). ×134; Fig. 4. The microspore mother cell and the stably layered anther wall. ×134; Fig. 5. The microspore mother cells starting meiosis and tapetal cells in its largest size. ×134; Fig. 6. Meiosis telophase I, noting the tapetal cells begin to contract. ×134; Fig. 7. The tetrads. ×268; Fig. 8. Microspores liberated from tetrad Contract into different shapes. ×134; Fig. 9. Microspore with monokaryon oriented laterally. ×268; Fig. 10. Two-celled pollen, showing the curve wall between generative and vegetative cells. ×268; Fig. 11. Two-celled pollen. ×268; Fig. 12. Three-celled pollen. ×268; Fig. 13. Anther of aborted male flower. ×134.

Plate I

Figs. 14—18. Micrographs of transverse section of anther from RRIM 600.; Figs. 19—24. Micrographs of transverse section of GT-1 anther. Fig. 14. Anther in the stage of pollen with monokaryon oriented laterally, showing different size aborted microspore. ×134; Fig. 15—16. Anther in the stage of pollen with monokaryon oriented laterally, showing the peculiar structure with 2—3 nuclei in the pollen sac. ×134; Fig. 17. Anther in Two-celled pollen stage, only one pollen grain grows normally. ×134; Fig. 18. Anther in the stage of three-celled pollen among which only two pollens develop normally. ×134; Figs. 19—20. Meiosis of microspore mother cells; tapetal cells become enlarged and vacuolated, and no contraction is found. ×134; Fig. 21. The smaller size of endothecium cell, peculiar enlarging of tapetal cell, narrow cavity of the pollen sac the degenerated tetrads. ×134; Fig. 22. Anther wall is same as in Fig. 21. showing the empty microspores. ×134; Fig. 23. The endothecium cells and tapetal cells enlarge at the same time and empty microspores are shown in pollen sac. ×134; Fig. 24. Peculiarly enlarged tapetal cell, in some of which protoplast disappears, and inside the pollen sac are disintegrated and dissolved tetrads. ×134.