

# 芡实花粉败育的细胞学观察\*

常福辰 施国新 丁小余 解凯彬

(南京师范大学生物系, 南京 210097)

**摘要** 芡实(*Euryale ferox* Salisb.)花粉的败育主要发生在小孢子母细胞减数分裂时期和小孢子单核期与二核期。形成的不正常四分体中有一些具有不完整的横隔壁,一些则完全不形成横隔壁,而发育成具4个核的原生质团;气候异常是造成该时期不育现象的主要原因之一。小孢子单核期及二核期存在发育异常的孢子。绒毡层的提前发育、过早解体、肥大生长及延迟退化是花粉败育的一个重要原因。

**关键词** 芡实;四分体;小孢子;败育

**Cytological observation on pollen abortion of *Euryale ferox* Salisb.** Chang Fuchen, Shi Guoxin, Ding Xiaoyu, Xie Kaibin (Department of Biology, Nanjing Normal University, Nanjing 210097), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(3): 53~58

The pollen abortion of *Euryale ferox* Salisb. occurs at meiosis and the uninucleate and dinucleate stage of microspore. Unnormal tetrads with uncomplete formation of cell plate, or even without any formation of cell plate, are also found after meiosis. These are partly caused by abnormal weather. The early-maturing or the late-degenerating of tapetum and the enlargement of tapetum are regarded as one of the important reasons to cause the pollen abortion.

**Key words** *Euryale ferox* Salisb.; tetrads; microspore; abortion

芡实(*Euryale ferox* Salisb.)为睡莲科一年生大型水生草本植物,我国南北均有分布,江苏省太湖地区大面积种植,是当地一种重要的水生经济植物。种子具有丰富的营养价值和药用价值,供食用,并制成芡粉,广销国内外。但由于小孢子的部分败育等原因导致种子结实率不高,成为制约芡实生产的一个主要因素。据调查,一般败育率可达20%~30%,有的年分更高。有关花粉败育的研究,多见于对一些植物雄性不育系花粉发育的观察,在水生植物方面则未见报道。作者在芡实花部发育和种子萌发生物学特性研究的基础上<sup>[1-3]</sup>,着重对小孢子败育现象进行较为系统的观察,以进一步了解芡实结实率较低的原因。

## 1 材料与方 法

研究材料取自苏州菱符乡群力村芡实荡内,不同发育时期的材料固定于FAA(50%)固定液中,按常规制片,切片厚度6~8 μm;用铁矾-苏木精染色,PAS反应鉴定多糖物质。Olympus

\* 国家自然科学基金和江苏省教育委员会自然科学基金共同资助课题  
常福辰:男,1952年7月生,大专,高级实验师,主要从事结构植物学研究。  
收稿日期:1999-03-19

BH-2 显微摄影;部分材料用 2.5% 戊二醛和锇酸双重固定,丙酮系列脱水,Epon 812 包埋,LKB 超薄切片机切片,经醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色后于 Hitachi 600-A-2 型透视显微镜下观察和拍片。

## 2 观察结果

### 2.1 小孢子发生时期

2.1.1 小孢子母细胞时期 由孢原细胞分裂形成初生造孢细胞,一部分初生造孢细胞直接发育为小孢子母细胞,还有一部分经再次分裂而形成次生造孢细胞,再发育成小孢子母细胞。小孢子母细胞细胞核大,位于细胞正中,核仁显著,通常一个,有时有二个或更多;细胞质浓厚,无明显的液泡。小孢子母细胞紧密排列而呈多角形,在进入减数分裂前,周围开始沉积胼胝质,并逐渐形成胼胝质壁。在此时期,有少数小孢子母细胞核膜破坏,染色质凝结成多个球状,似多核仁分布于细胞中(图版 I-1)。

2.1.2 小孢子母细胞减数分裂时期 小孢子母细胞经减数分裂形成小孢子四分体,其孢质分裂为同时型;减数分裂第一次分裂后不形成细胞壁,只形成一个具双核的细胞,在第二次分裂后,4个核之间同时产生壁,而形成四分体。由于在第二次分裂时两组纺锤体所处的位置不尽相同,导致形成的小孢子四分体多为四面体型(图版 I-2),四分体具胼胝质壁,4个小孢子间也都有胼胝质分隔。正常发育的小孢子在经历短暂的四分体阶段后,在绒毡层所释放的胼胝质酶的作用下,胼胝质壁溶解,4个小孢子释放出来。但是,有一些小孢子母细胞在进入减数分裂时经二次分裂形成4个细胞核后,不再形成横隔壁,因此只发育成具4个核的原生质团(图版 I-3),或是部分形成横隔壁(图版 I-4),电镜观察可见,这种发育不正常的四分体的胼胝质横隔壁不是象正常发育时由母细胞的二端壁向心伸入会于中央,而是仅由母细胞壁一边延伸至中央,在伸入中央的一端壁处,有若干部分已出现不同程度的消融现象。在未产生横隔壁处相邻的小孢子细胞质相连,该处的质膜向内皱缩变形(图版 I-13)。

由于芡实每朵花的雄蕊是由外轮向内轮渐次发育的,因此一朵花的各花药之间小孢子发生减数分裂及其发育有明显的不同步性,甚至同一花药不同药室中小孢子的发育也存在不同步现象。

### 2.2 雄配子体发育时期

2.2.1 单核小孢子期 随着四分体胼胝质壁的消融,由四分体中脱出4个小孢子。在经历短暂的“收缩期”后,小孢子体积迅速增大,细胞质逐渐液泡化,并形成一个中央大液泡,将细胞核由中央压迫至细胞的一侧,形成单核靠边期小孢子,而显出极性。

此时期观察到有一些单核小孢子细胞不是正常状态下的圆球形或椭圆球形,而是呈狭长的不规则状,细胞核的结构不明显,核质凝成染色深的一团物质,似巨型核(图版 I-7)。

2.2.2 小孢子二核时期 单核小孢子发生第一次有丝分裂后,分别形成营养核和生殖核,接着进行孢质分裂,由于孢质分裂的高度不均等性,形成大的营养细胞和小的生殖细胞。营养细胞包含了原有小孢子的大液泡和大部分细胞质,而生殖细胞仅包含少量的细胞质,呈透镜状(图版 I-5)。生殖细胞渐渐向内离开花粉壁,游离于营养细胞的细胞质中,形状变圆,随着发育变为椭圆形,最后变为纺锤形,并维持至散粉阶段(图版 I-6)。在此阶段,可看到有的花粉

粒细胞核已解体,细胞质凝结成球形或其他各种形状,散布在细胞中(图版 I-8),渐渐形成空瘪花粉粒,观察中发现有相当数量的空瘪花粉粒存在。

### 2.3 绒毡层的发育

芡实的绒毡层为腺质绒毡层,通常是一层细胞,有时部分区域也有具二层细胞的;在次生造孢细胞形成阶段,绒毡层细胞为单核细胞,体积与中层细胞相似;当小孢子母细胞进入减数分裂时,绒毡层细胞达到最高度的发育时期,其体积明显大于中层细胞,这时的细胞多具双核,核大而显著,细胞质浓厚,液泡少而小,具明显的腺细胞特征;在小孢子四分体阶段后期,绒毡层细胞开始原位解体,并随着小孢子的发育而继续解体,以至这一时期绒毡层细胞内具形态的结构已不复存在,细胞体积明显缩小到比解体中的中层细胞还小(图版 I-5);在花粉粒成熟花粉囊破裂时,绒毡层细胞已被吸收殆尽,此时的花粉囊壁只剩下表皮和纤维层两层细胞。

观察中发现除了一些花粉囊的绒毡层出现过早解体而导致四分体胼胝质壁提前消融外,还有相当部分的绒毡层细胞出现肥大生长并延期解体现象(图版 I-9),由于绒毡层细胞的延期解体导致小孢子发育的不正常(图版 I-10)。有的绒毡层细胞生长深入花粉囊内,形成囊内的分隔,分隔内仍然有花粉粒生长发育(图版 I-11,12)。

### 2.4 雄蕊的退化

芡实的雄蕊虽然多数,但外轮雄蕊常瓣化,无花药花丝的分化,向心瓣化程度逐渐下降,出现虽有花药与花丝分化,但只在近轴面一侧产生花粉囊,这种花粉囊内产生的花粉多为无效花粉。再向内产生正常雄蕊。

## 3 讨 论

有关花粉败育的主要发生时期,各种观察与研究结果不尽相同。王伟等观察到西瓜雄性不育株的次级造孢细胞发生败育<sup>[4]</sup>;陈朱希昭等认为花粉败育的关键时期是在小孢子四分体至释放小孢子前后,并认为应该对与蛋白质合成有密切关系的内质网系统的动态引以注意<sup>[5]</sup>;有的研究表明花粉败育主要发生在花粉发育的单核时期<sup>[6]</sup>;潘坤清观察到水稻野败型雄性不育系的花粉败育大部分发生在由单核期向双核期发育的阶段<sup>[7]</sup>。Laser 甚至认为:双子叶植物不育系花粉的败育多发生在四分体形成前,单子叶植物则多发生在小孢子后期或到达双核期<sup>[8]</sup>。作者认为,尽管一些植物在花粉败育出现的具体时间上存在着差异,并由此得出不同的结论,但一般说来,植物在花粉发育的各个时期,都可能发生败育,尽管引起败育的原因不尽相同。芡实花粉的败育主要发生在小孢子母细胞减数分裂时期、小孢子的单核期和二核期。

作者在小孢子母细胞时期观察到一些小孢子母细胞的核膜遭到破坏,核质皱缩呈多个球状,导致其减数分裂不能正常进行。杨貌仁等在水稻不育系花粉形成过程中也曾观察到小孢子母细胞在减数分裂的任何时期,染色体全部或部分与核仁缠绕而胶合成不规则的团块<sup>[9]</sup>。有的小孢子母细胞在减数分裂后形成的小孢子四分体内只发育形成不完整的横隔壁,而且这种发育不完整的横隔壁在持续较短时间后即开始消融;有的小孢子四分体根本不具横隔壁而形成合胞体,这些都导致不能形成正常的小孢子。上述现象杨貌仁、陈机等也都有报道<sup>[6,9]</sup>。由于小孢子母细胞在减数分裂及形成四分体时期对外界环境的异常极为敏感,如不合适的温

度、多雨、干旱等都可导致败育现象的产生<sup>[6,10,11]</sup>。一般水生环境相对较稳定,外界环境的一些变化对生长于其间的水生植物不致造成较大的影响,但是芡实是一种喜温植物,尤其是进入生殖生长时期,对温度要求较高。调查中注意到,有些年份芡实种子产量明显较低,根据现有资料分析,认为低温多雨造成芡实花粉败育是一个主要原因,这主要表现在对小孢子母细胞减数分裂形成四分体阶段的影响。生产上可采取降低水位以增加水温等措施来减少损失。

有关小孢子单核期与二核期花粉败育的报道较多<sup>[7,8,12]</sup>。由四分体中释放出的单核小孢子经过一个短暂的“收缩期”后,体积迅速增大,内含物逐渐积累并准备进行有丝分裂。这一阶段的发育需要吸收大量营养,而这时小孢子的营养物质主要靠绒毡层细胞提供。芡实这一时期的败育花粉中,有一部分是由于在小孢子母细胞减数分裂时,形成不正常的四分体,随着胼胝质壁的分解释放出的异常小孢子,还有相当一部分则是由于绒毡层的异常发育造成的。

绒毡层在小孢子发育中起着至关重要的作用,绒毡层发育不正常必然影响小孢子的正常发育,因此,绒毡层被认为是雄性不育的主要原因之一<sup>[8]</sup>。一些研究表明,绒毡层发育失常而导致花粉败育主要有3种情况:(1)过早释放胼胝质酶,导致小孢子母细胞减数分裂不正常,或使小孢子过早从四分体中分离<sup>[10]</sup>;(2)过早解体,而不是象正常情况下在四分体形成后逐渐解体,从而使小孢子发育失去了营养物质的来源<sup>[6,7]</sup>;(3)肥大生长,延迟退化<sup>[6,12]</sup>。

芡实的绒毡层除有过早解体现象外,还有出现肥大生长并延期退化的现象,绒毡层发育进程的推迟使得绒毡层细胞不能正常释放营养物质,影响小孢子的正常发育,从而导致花粉的败育。

有关绒毡层细胞深入生长至花粉囊内形成囊内分隔现象尚未见报道,但据观察这种生长未对花粉的发育造成不良影响。

### 参 考 文 献

- 1 陈维培,张四美,徐祥生,等. 芡的花部解剖结构和发育的研究. 植物学报, 1991, 33(2): 104~109.
- 2 施国新,徐祥生. 芡实种子萌发期的生物学特性与结构解剖. 广西植物, 1989, 9(3): 255~258.
- 3 Ito M. Phylogenetic systematics of the Nymphaeales. Bot Mag Tokyo, 1987, 100; 17~35.
- 4 王伟,谭敦炎,田允昌,等. S351-1 西瓜雄性不育的细胞学研究. 西北植物学报, 1998, 18(3): 361~365.
- 5 陈朱希昭,陈耀堂,高信曾. 太谷核不育小麦花药组织的小孢子发生的超微结构研究. 植物学报, 1991, 33(2): 235~240.
- 6 陈机. 植物发育解剖学. 山东: 山东大学出版社, 1996. 62~94.
- 7 潘坤清. 水稻野败型雄性不育系花粉败育的解剖学和细胞学观察. 遗传学报, 1979, 6(2): 211~215.
- 8 Laser K D, Lersten N R. Anatomy and cytology of microgenesis in cytoplasmic male sterile angiosperm. Bot Rev, 1972, 38(3): 425~454.
- 9 杨貌仁,李坤季. 水稻雄性不育系花粉形成和发育的细胞形态学研究. 植物学报, 1984, 26(1): 105~108.
- 10 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 人民教育出版社, 1982. 20~54.
- 11 陆文燊,诸颖杰. 温度对离体培养中凤信子再生雄蕊的诱导、小孢子发生和花粉发育的影响. 植物学报, 1990, 32(11): 832~840.
- 12 徐祖元,周玲革,姜金波,等. 新型小麦胞质不育系花粉败育的细胞学观察. 武汉植物学研究, 1998, 16(3): 193~196.



图版说明

Gc: 生殖细胞; Mic: 小孢子母细胞; Ms: 小孢子; Te: 四分体; Vc: 营养细胞; Ta: 绒毡层; Ml: 中层细胞

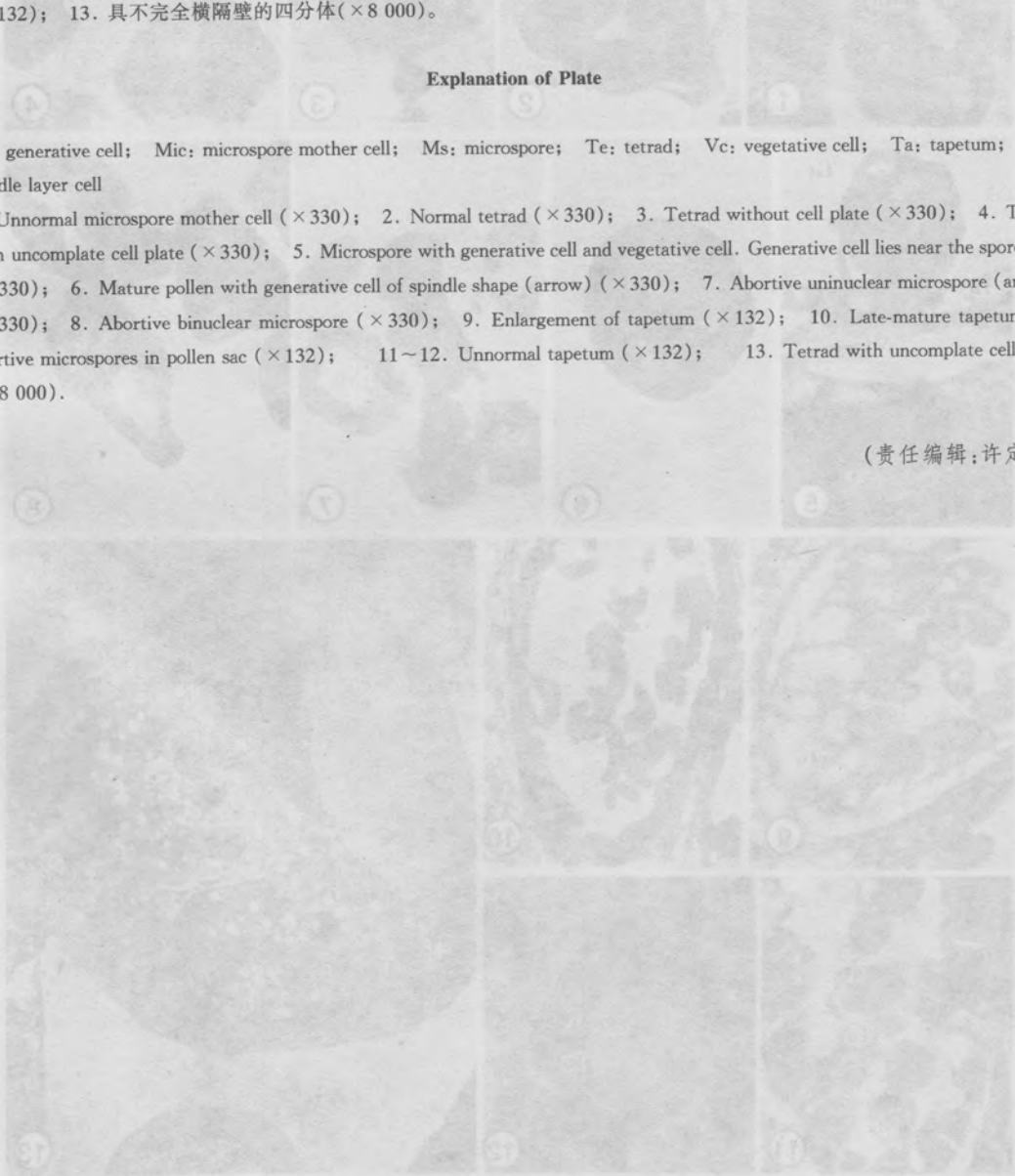
- 1. 示发育异常的小孢子母细胞(箭头所指)( $\times 330$ );
- 2. 示正常发育的四分体( $\times 330$ );
- 3. 不具横隔壁的四分体( $\times 330$ );
- 4. 具不完全横隔壁的四分体( $\times 330$ );
- 5. 具二细胞的小孢子, 生殖细胞靠边( $\times 330$ );
- 6. 成熟的小孢子, 生殖细胞呈梭形(箭头所指)( $\times 330$ );
- 7. 单核期的败育小孢子(箭头所指)( $\times 330$ );
- 8. 二核期的败育小孢子( $\times 330$ );
- 9. 肥大生长的绒毡层( $\times 132$ );
- 10. 延迟退化的绒毡层及花粉囊内的败育小孢子( $\times 132$ );
- 11~12. 示异常生长的绒毡层( $\times 132$ );
- 13. 具不完全横隔壁的四分体( $\times 8\ 000$ ).

Explanation of Plate

Gc: generative cell; Mic: microspore mother cell; Ms: microspore; Te: tetrad; Vc: vegetative cell; Ta: tapetum; Ml: middle layer cell

- 1. Unnormal microspore mother cell ( $\times 330$ );
- 2. Normal tetrad ( $\times 330$ );
- 3. Tetrad without cell plate ( $\times 330$ );
- 4. Tetrad with uncomplete cell plate ( $\times 330$ );
- 5. Microspore with generative cell and vegetative cell. Generative cell lies near the spore wall ( $\times 330$ );
- 6. Mature pollen with generative cell of spindle shape (arrow) ( $\times 330$ );
- 7. Abortive uninuclear microspore (arrow) ( $\times 330$ );
- 8. Abortive binuclear microspore ( $\times 330$ );
- 9. Enlargement of tapetum ( $\times 132$ );
- 10. Late-mature tapetum and abortive microspores in pollen sac ( $\times 132$ );
- 11~12. Unnormal tapetum ( $\times 132$ );
- 13. Tetrad with uncomplete cell plate ( $\times 8\ 000$ ).

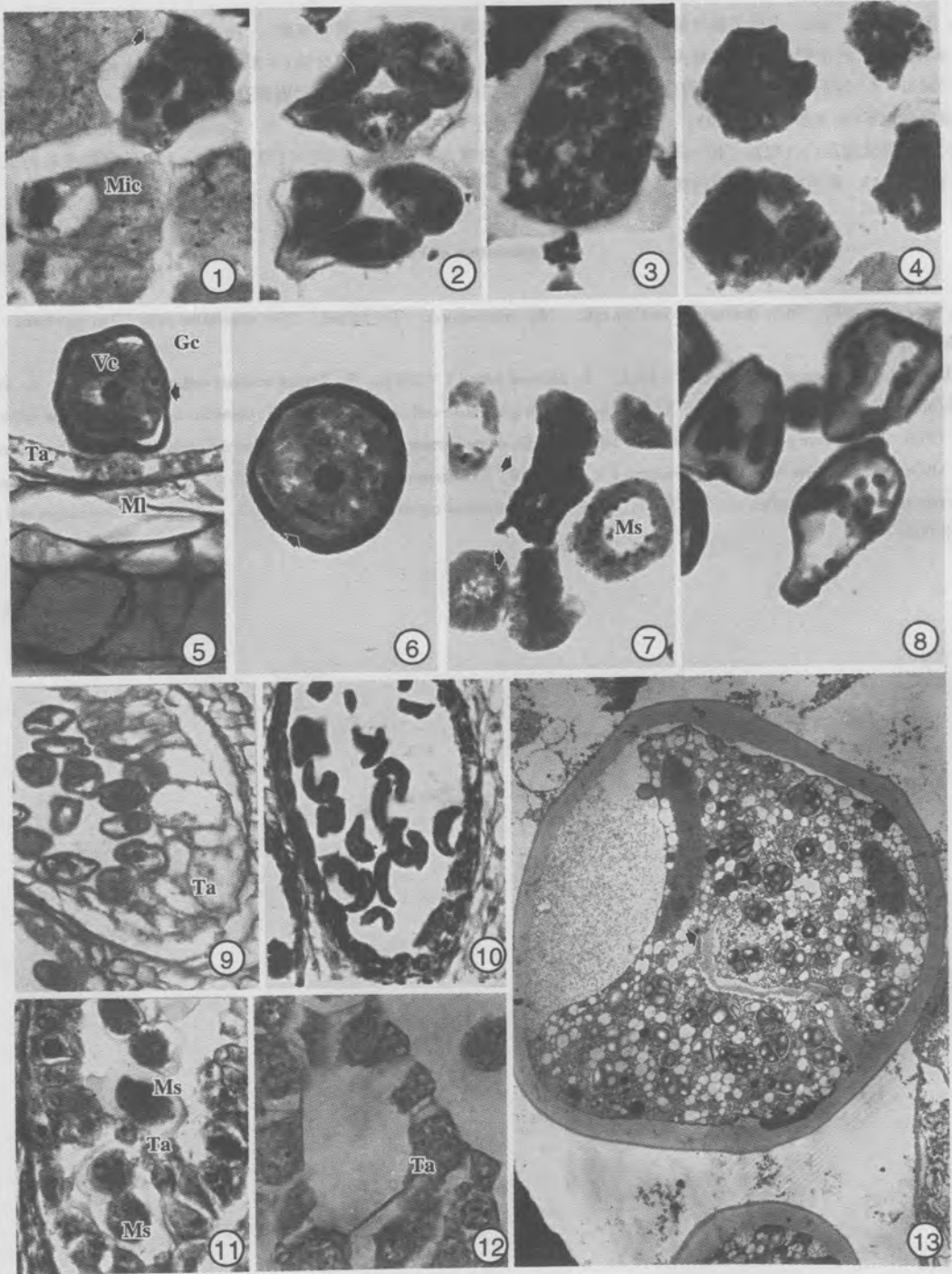
(责任编辑: 许定发)



常福辰等: 芡实花粉败育的细胞学观察  
 Chang Fuchen *et al*: Cytological observation on pollen  
 abortion of *Euryale ferox* Salisb.

图版 I

Plate I



See explanation of the end of text