

鹅掌楸结籽率低的胚胎学原因探讨

黄坚钦

(浙江林学院林学系, 临安 311300)

摘要 在胚胎学研究的基础上, 对鹅掌楸雌配子体发育过程中败育情况、双受精过程花粉生长情况以及种子形成的胚胎发育情况调查得出, 鹅掌楸结籽率低的胚胎学原因主要是: ①自交不亲合性; ②自交不亲合的主要部位在花粉管进入花柱受阻。本文还探讨了自交不亲和性产生的原因, 并提出了提高结籽率的途径。

关键词 鹅掌楸; 自交; 不亲合性; 结籽率

中图分类号 S718.43; S792.210.4

鹅掌楸(*Liriodendron chinense*)为木兰科鹅掌楸属, 我国特有二级珍稀保护植物。它生长快, 树形美, 叶似鹅掌, 秋叶金黄色, 具有较高的观赏价值, 受到园艺工作者的青睐。但由于它的结籽率低, 自然状态下不足1% (南京)^[1], 对其发展带来了很大的限制。因此, 研究它致濒的胚胎学原因, 给出对策, 在理论和生产上都有现实意义。

1 材料和方法

材料选自南京林业大学校园内栽培植株, 树龄34 a, 生长良好。3月份开始采样, 每周1次; 开花后试验及采样见前文^[2]。样品经FAA固定, 常规石蜡制片, 厚8~10 μm, 番红-固绿对染。

花粉萌发及花粉管显示采用脱色苯胺蓝荧光或扫描电镜观察并统计。具体如下: 切取传粉后柱头或挖取传粉后72 h及83~110 h的胚珠, 固定后复水至水溶液, 经软化, 水洗转移到脱色苯胺蓝, 用奥林巴斯落射式荧光显微镜观察并拍照。或材料经脱水, 乙酸戊脂置换, 二氧化碳临界点干燥, 金喷镀, 菲力普SEM-505扫描电镜观察并拍照。

以明显形成囊腔, 并检查到有卵细胞或助细胞的为已发育的胚囊。胚珠及胚囊的发育在显微镜下逐个镜检。统计采用下列公式:

$$\text{发育胚珠比率}(r_d) = \frac{\text{实际发育胚珠数}}{\text{应发育胚珠数}}$$

$$\text{具大孢子母细胞胚珠比率}(r_m) = \frac{\text{具大孢子母细胞胚珠数}}{\text{发育胚珠数}}$$

收稿日期: 1998-03-10

作者简介: 黄坚钦, 男, 1964年生, 讲师, 硕士

$$\text{具成熟胚囊胚珠比率}(r_e) = \frac{\text{发育胚囊数}}{\text{发育胚珠数}}$$

花粉管生长统计采用下列公式:

$$\text{具花粉管胚珠比率}(r_t) = \frac{\text{具花粉管胚珠数}}{\text{观察胚珠总数}}$$

$$\text{花粉管进入珠孔的胚珠比率}(r_i) = \frac{\text{珠孔具花粉管的胚珠数}}{\text{观察胚珠总数}}$$

2 观察结果

2.1 雌配子体发育过程中败育情况调查

鹅掌楸子房内含 2 个胚珠, 发育成熟的仅 1 个。胚珠的发育及雌配子体的成熟过程已作了报道^[3,4], 在此基础上检查了胚珠及雌配子体发育过程中的败育情况, 结果见表 1。发育至大孢子四分体前, 有 69%~82% 的胚珠发育, 其中 90% 以上大孢子母细胞都能发生。大孢子母细胞减数分裂后, 至雌配子体成熟, 有 61%~70% 的胚珠继续发育, 少数的因争夺空间而败育。在成熟胚珠中, 具成熟胚囊的占 42%~50%。因此, 全过程存在着胚囊败育现象(图 1-1), 主要集中在四分体阶段。

表 1 胚珠和胚囊发育情况调查

Table 1 The rate of developing ovules and embryo sacs

发育时期	$r_d / \%$		$r_m / \%$		$r_e / \%$	
	1990 年	1991 年	1990 年	1991 年	1990 年	1991 年
大孢子四分体前	82 (7)	69 (12)	91 (2)	90 (4)		
胚囊期	70 (6)	61 (15)			50 (5)	42 (8)

注: 括号内的数字表示调查的聚合果数

2.2 花粉在柱头上萌发及花粉管到达胚珠情况调查

花粉落在柱头上后, 6 h 达到萌发高峰^[1], 72 h 后陆续到达胚珠, 进入珠孔(图 1-2)。从荧光及扫描电镜观察看, 64% 的柱头具萌发的花粉^[5], 而花粉管进入到子房腔, 到达胚珠的仅 12%~18%, 进入珠孔的则更少, 仅 2.4%~3.1% (表 2)。花粉管在花柱沟内没有扭曲、顶端膨大和胼胝质积累现象。到达胚珠后, 存在不定向生长(图 1-3)及花粉管盘绕、扭曲现象(图 1-4)。

表 2 花粉管到达胚珠情况调查

Table 2 The rate of pollen tubes to ovules

授粉后时间/h	r_t		r_i	
	比 值	百分率/ %	比 值	百分率/ %
72	5/42	12	1/42	2.4
84~110	6/33	18	1/33	3.1



图 1 鹅掌楸雌配子体发育和胚胎发育过程中的败育现象

1. 败育的胚囊 $\times 132$; 2. 花粉管进入珠孔 (荧光) $\times 200$; 3. 花粉管不定向生长 (SEM) $\times 450$;
4. 花粉管扭曲, 先端膨大 $\times 200$; 5. 卵细胞退化 $\times 400$; 6. 退化胚乳 $\times 200$

Figure 1 Abortive cases in female gametophyte and embryo development of *Liriodendron chinense*

1. abortive embryo sac $\times 132$; 2. pollen tube enters into micropyle $\times 200$; 3. unidirectional development of pollen tube (SEM) $\times 450$;

4. twisted and distorted pollen tube (fluorescence) $\times 200$; 5. degenerative egg $\times 400$; 6. degenerative endospem $\times 200$

2.3 种子形成的情况调查

受精后, 受精卵及受精极核进一步发育, 胚珠发育成种子^[2,3]。传粉 35 d 的聚合果中, 胚乳发育中存在着败育(图 1-6), 观察到的细胞原胚和胚囊腔内却无胚乳存在^[2]。在切片中, 我们也观察到卵细胞在花粉管到达前即已退化(图 1-5)。1990~1991 年分别检查了 1532 个和 539 个翅果(人工授粉), 结籽率仅 0.78% 和 2.20%。

3 结果分析

3.1 结籽率低的主要原因

鹅掌楸结籽率低是致濒的主要原因, 影响结籽率的因素是多方面的, 有环境因子^[6], 有花的形态结构特征^[3](如花被分化不明显, 花冠没有特异结构, 传粉者不具专一性)以及胚胎学因子^[1](如花粉/胚珠比值下降, 单花花期不遇, 可授期短, 自花不亲和^[6]等)。从胚胎学角度看, 除了这些因子外, 还存在胚珠及胚囊的败育。从统计观察的结果看, 胚珠和胚囊虽存在败育, 但其败育数量与不足 1% 的结籽率相比, 问题关键不在这方面。而花粉管的进一步生长, 64% 的雌蕊具萌发的花粉, 仅 2.4%~3.1% 的胚珠有机会实现受精, 这结果与结籽率是相接近的。因此, 可以说, 花粉管极少进入珠孔才是结籽率低的胚胎学主要原因。根据自交不亲和的含义, 即自花授粉后, 能育花粉完全或部分不能形成可育种子^[7], 鹅掌楸应属于这一范畴。

3.2 自交不亲和发生的部位及发生原因探讨

在花粉——雌蕊相互作用过程中, 不亲和可以发生在雌蕊的每一个部位, 干性柱头一般认为首先是花粉与柱头表膜的识别过程^[8,9], 湿性柱头则主要发生在花柱中^[9]。鹅掌楸为湿性柱头^[10], 在进入花柱沟时, 却发现花粉管有大量的滞留, 仅 24% 的花粉管进入到花柱中^[5], 未见花粉管膨大、扭曲等不亲和的形态特征^[8]。到达胚珠后, 花粉管出现了不定向生长, 并出现缠绕、扭曲等现象, 在北美鹅掌楸(*L. tulipifera*)×鹅掌楸的种间杂交中, 个别胚珠也有此现象发生, 但从连续切片看, 仍有花粉管进入珠孔^[12]。可见, 鹅掌楸不亲和发生的主要部位在柱头沟。但不亲和花粉管在形态上却没有出现明显的不亲和特征, 是花粉本身, 花粉管发育有差异^[5], 还是花柱及两者协调方面的原因确需进一步细究。花粉管在胚珠上生长不定向、扭曲等, 很可能与它演化水平比较低, 向化性物质定向能力差有关。

3.3 提高结籽率的办法

要提高结籽率, 首先要提高具花粉管胚珠的比率, 因此, 适时传粉, 提高花粉/胚珠比值是一个有效的办法^[1]。1991~1993 年连续 3 a 采用人工辅助授粉, 结籽率平均达到 20.83%^[13]。浙江松阳县鹅掌楸种子园内利用放蜂辅助授粉, 结籽率达 6.00% 以上, 这是一种提高结籽率的简便办法。

参 考 文 献

- 1 樊汝汶, 叶建国, 尹增芳等. 鹅掌楸种子和胚胎发育的研究. 植物学报, 1992, 34(6): 437~442
- 2 黄坚钦, 周坚, 樊汝汶. 中国鹅掌楸双受精和胚胎发生的细胞形态学观察. 植物学通报, 1995, 12(3): 45~47
- 3 樊汝汶, 尹增芳, 尤录祥. 中国鹅掌楸花芽分化的细胞形态学观察. 南京林业大学学报, 1990, 14(2): 26~32
- 4 黄坚钦. 鹅掌楸雌配子体发育及淀粉动态观察. 浙江林学院学报, 1998, 15(2): 164~169
- 5 周坚, 樊汝汶. 鹅掌楸属 2 种植物花粉品质和花粉管生长的研究. 林业科学, 1994, 30(5): 405~411

- 6 Steinhubel G. The factors of inhibition in reproduction of *Liriodendron tulipifera* by seeds from Slovakia. *Biol Pr*, 1962, 7 (5): 1~87
- 7 Heslop-Harrison J. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Ann Rev Plant Physiol*, 1975, 26: 403~425
- 8 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 高等教育出版社 1982. 128~129
- 9 阙求登. 花粉——雌蕊相互作用的控制机理. 植物生理学通讯, 1987, (2): 22~26
- 10 黄坚钦, 樊汝汶, 黄金生. 中国鹅掌楸柱头发育的超微结构和物质分泌. 南京林业大学学报, 1993, 17 (4): 48~52
- 11 樊汝汶, 方炎明, 黄金生. 鹅掌楸属植物引导组织和花粉管生长. 西北植物学报, 1995, 15 (3): 219~224
- 12 樊汝汶, 尤录祥. 北美鹅掌楸和中国鹅掌楸种间杂交胚胎学观察. 南京林业大学学报, 1996, 20 (1): 1~5
- 13 尤录祥, 樊汝汶, 邹觉新. 人工辅助授粉对鹅掌楸结籽率的影响. 江苏林业科技, 1995, 22 (3): 12~14

Huang Jianqin (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC). **Embryology reasons for lower seed-setting in *Liriodendron chinense*.** *Journal of Zhejiang Forestry College*, 1998, 15 (3): 267~273

Abstract: Based on embryology research in *Liriodendron chinense*, the abortive female gametophyte in its development was checked up by light microscope. The development of pollen tube in fertilization was detected by fluorescence microscope or by scanning electron microscope. And the rate of seed-setting was also investigated. Results were as follows: (1) The main embryology reason for low seed-setting in *Liriodendron chinense* was self-incompatibility. (2) The main site of incompatibility was in stigma-canal, where pollen tube was blocked. The reasons for self-incompatibility were discussed and a method to improve the rate of seed-setting was put forward.

Key words: *Liriodendron chinense*; selfing; incompatibility; rate of seed-setting