

华山新麦草小孢子发生及雄配子体的形成

张林静^{1,2}, 王 丽¹, 李智选¹, 赵桂仿¹

(1. 西北大学 生命科学学院, 秦岭生物多样性研究中心, 陕西 西安 710069; 2. 山西师范大学 生物学系, 山西 临汾 041004)

摘要: 采用石蜡切片、扫描电镜等方法对华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng.) 小孢子发生和雄配子体形成过程进行了观察。结果表明, 小孢子母细胞减数分裂为连续型, 四分体为左右对称型, 成熟花粉为3-细胞型, 与小麦属特征一致。花粉发育后期的营养竞争可能是近二核时期花粉败育的主要原因。华山新麦草的花粉败育影响其有性生殖, 但不能直接阻碍其有性生殖, 因此, 华山新麦草花粉败育可能不是致濒的主要原因。

关键词: 华山新麦草; 小孢子发生; 雄配子体形成; 花粉败育

中图分类号: Q94-336 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-274 X (2002)01-0077-04

华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng.) 属禾本科禾亚科大麦族新麦草属的植物, 仅分布于陕西华山一带, 是我国的特有种。由于新麦草属是小麦属的近缘属, 加之华山新麦草具有抗旱、抗寒、早熟等许多优良的生物学特性, 颇受植物系统学家和育种工作者的关注。并已被用于杂交育种和转基因研究^[1]。目前, 该种已被列为国家一类珍稀保护植物和急需保护的农作物野生种^[2]。过去关于华山新麦草的研究多集中在系统进化和杂交育种方面, 而关于华山新麦草胚胎学及生殖生物学等一些基础资料尚未见报道。为了更好的保护这种农作物的野生种质资源, 探讨其致濒原因, 有必要对其生殖生物学进行深入的研究, 为华山新麦草的胚胎学提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料采自华山移至西北大学果园的栽培植株及华山上的野生植株, 本实验从1998~2000年连续3年进行。每年从3月9日开始, 每隔24 h 采样一次, 直至种子成熟, 历时3个月。

1.2 方法

1.2.1 石蜡切片法 采用常规制片法。材料采集后于纳瓦兴固定液固定, 酒精系列脱水、透明、浸蜡、包埋、切片(厚度8~10 μm), 铁矾苏木精染色, 发育中后期得样品加PAS反应法, Leica DMLB型显微镜观察并摄影。

1.2.2 扫描电镜法 对接近成熟的花药采用KYKY-2800型扫描电镜, 观察花粉粒形态及花药内部结构。材料用液氮冷冻干燥, 置于冷台样品室, 观察并摄影。

1.2.3 花粉萌发力测定 花粉的培养基为蔗糖、0.6%琼脂和0.01%硼酸, 分设5个蔗糖浓度梯度, 即15%, 20%, 25%, 30%和35%。分别撒上刚采集的花粉, 置于27℃培养箱中, 保持一定湿度, 培养2 d, 观察花粉的萌发情况, 并记录, 如此重复5次。

在光学显微镜下对石蜡切片中花粉异常率进行统计, 并在种子成熟后计测各穗结实率。

2 观察结果

2.1 花药壁发育

从华山新麦草雄蕊原基的横切面上可看到一层

收稿日期: 2000-10-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39770057)

作者简介: 张林静(1969-), 女, 山西临汾人, 山西师范大学讲师, 西北大学博士生, 从事植物解剖和分子生态研究。

表皮下一群分裂活跃的细胞(图版 I, 1), 随后 4 个角隅处表皮下分化出一个孢原细胞(图版 I, 2)。孢原细胞平周分裂, 形成壁细胞和造孢细胞。壁细胞分裂分化形成一层药室内壁, 一层中层和一层绒毡层, 与表皮层一起构成完全分化的花药壁(图版 I, 3, 4)。

表皮细胞, 从横切面和纵切面上看, 发育初期为径向较长的立柱或近乎等径的正方形, 以后逐渐切向延长而径向缩短呈扁平状, 以适应内部组织的生长。表面有角质层, 并有许多与花药纵轴平行的凹凸而波曲的棱线。在横切面上看, 并伴有微小的锯齿(图版 II, 18)。

药室内壁, 位于表皮下方, 一直保存到花药成熟开裂。在单细胞花粉后期, 开始在内切向壁和径切向壁上出现纤维状加厚, 在横切面(图版 I, 18)和纵切面(图版 II, 19)均可见到。在二细胞花粉时期, 药室内壁细胞中有颗粒状贮存物, 颗粒大, 数量多, 分布在整個细胞中(图版 II, 16), 到成熟花粉时期, 这些物质仍可见到, 但较少, 围绕在细胞壁附近(图版 II, 17), 经高碘酸-希夫试剂染色后, 显 PAS 正反应, 推测颗粒状贮存物质为淀粉。

中层: 中层停止生长较早, 在花粉母细胞减数分裂前逐步解体, 被吸收。

绒毡层位于最内层直接与花粉相邻。在发育初期, 单核, 与其他壁层细胞无明显区别(图版 I, 3), 但至小孢子母细胞时期, 体积增大, 细胞质浓厚, 后来, 进行一次核分裂, 成为双核细胞。绒毡层细胞在小孢子发育后期开始解体。二胞花粉期, 可看到一些绒毡层细胞解体后残留贴于药壁, 成熟花粉的药壁中绒毡层基本消失。绒毡层细胞大小、形态均匀一致, 表明来源相同, 位置基本固定, 属于腺质型绒毡层。扫描电镜观察, 在小孢子发育后期, 绒毡层朝药室一侧的壁上可见到一些清晰的颗粒状结构, 直径 $0.55 \mu\text{m}$ 左右, 外形似圆球, 上有数个小刺状突起(图版 I, 20, 21)。从分布位置和形态上类似于小麦的乌氏体^[3]。

从上述花药壁各层的发育变化看, 表皮一直维持。药室内壁起初为薄壁细胞, 以后随着体积增大, 其壁上纤维状, 并有贮存物加厚。中层细胞短命, 在小孢子母细胞减数分裂前逐步解体。绒毡层在小孢子发育后期开始解体。因此, 成熟花粉粒的药壁只剩下表皮和纤维状加厚的药室内壁。

2.2 小孢子及雄配子体发育

造孢细胞经数次有丝分裂形成小孢子母细胞,

小孢子母细胞减数分裂形成小孢子。小孢子母细胞减数分裂, 第一次分裂后形成细胞壁把二子核隔开为二分体, 二分体再经一次分裂形成四分体。此种胞质分裂方式为连续型。

四分体时期小孢子没有明显的液泡, 四分体为共同的胼胝质包围, 4 个小孢子之间也为明显的胼胝质壁所分开(图版 I, 7)。华山新麦草的四分体几乎均为左右对称型。由于小孢子母细胞的分裂有严格的方向性, 即第一次分裂方向与花药纵轴平行(图版 I, 6, 9), 第二次分裂方向与花药纵轴垂直, 并且同一药室小孢子母细胞的减数分裂高度同步(图版 I, 9), 故在横切面上可看到四分体的 2 个小孢子(图版 I, 8), 在纵切面上, 为“田”字形四分体(图版 I, 7)。以后, 四分体相互分开成为单核小孢子(图版 I, 10)。

小孢子进一步发育, 经一次不均等分裂形成二细胞花粉, 二细胞花粉内生生殖细胞呈透镜状, 贴于壁内侧(图版 I, 11), 随后, 游离于营养细胞质中, 再进行一次有丝分裂形成两枚精子, 这样成熟花粉为 3-细胞型。每粒花粉具一个萌发孔, 成熟的花粉粒直径 $20 \mu\text{m}$ 左右。

精干为柳叶形或眉形, 大多是两条精子平行位于营养核的一侧(图版 II, 14), 也有两条精子呈眉状“八”字形排列(图版 I, 15)。

连续 3 年切片观察表明, 从二细胞花粉时期开始, 有许多花粉原生质体收缩、变形(图版 I, 12)或质壁分离(图版 I, 13)。有的进一步收缩成一团, 最后变瘪, 有的原生质体完全解体为空虚的花粉粒。经花粉生活力测定, 结果表明花粉萌发率 2% 左右。石蜡切片观察统计显示, 花粉异常率(主要包括肉眼可辨的产生质壁分离的、变形的和空虚的花粉数)为 60%~70%。经对成熟华山新麦草的麦穗统计, 结实率仅为 7%~15%。可以说明, 华山新麦草花粉败育现象较为严重, 从而结实率偏低。

3 讨 论

华山新麦草花药具 4 个花粉囊, 小孢子母细胞减数分裂为连续型, 小孢子四分体为左右对称型, 成熟花粉粒为 3-细胞型, 这些特征与小麦相同, 与前人研究的禾本科的胚胎学特征基本一致^[4]。华山新麦草的成熟花粉粒与小麦基本相同又略有差异, 均含有两枚精子和一个营养细胞, 但它们的相对位置不同。我们在 3 年的大量切片中, 观察到华山新麦草

精子排列存在两种情况。一种是两枚精子近乎平行位于营养核一侧, 与小麦相似, 华山新麦草大多数花粉粒属此类, 从花药横切(图版 I, 13)和纵切(图版 I, 14)可以说明。另一种是华山新麦草有少数花粉的两条眉状精子呈“八”字形排列(图版 I, 15)。

华山新麦草花粉发育后期, 主要在近双核期, 许多花粉原生质体收缩, 质壁分离或变形, 有的解体成为空瘪, 表现为花粉败育。有较多研究将花粉败育归因于绒毡层异常^[5], 理由是绒毡层对小孢子的发育有营养功能。有些植物如小麦、大麦、水稻、高粱、甜菜、亚麻、胡萝卜^[5]等的不育系花药绒毡层发育不正常, 有绒毡层肥大生长、延迟退化或提早解体等反常行为。但是, 也有人认为花粉败育与绒毡层关系不大。北京大学生物学系植物遗传育种专业^[6]对小麦雄性不育研究认为花粉败育发生在小孢子发育后期以后, 而此时绒毡层是正常的, 二者并无直接关系。本研究表明, 华山新麦草花粉败育时期在近双核期, 而此时从绒毡层形态、结构、存在时期、分布位置来看未发现异常, 故认为华山新麦草花粉败育与绒毡层关系不大, 与前人对小麦的研究结果一致^[5-6]。

大部分植物花药发育后期, 药室内壁纤维状加厚, 是花药开裂的一种适应机制, 一般不具备储存物质, 但有些植物不育系如玉蜀黍(*Zea mays* L.)^[7]、萝卜(*Raphanus sativus* L.)、大葱、百合(*Lilium*)^[5]、木豆(*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)^[5]等, 它们的药室内壁细胞贮存代谢产物如脂类、糖类等, 并且这些不

参考文献:

- [1] 孙根楼, 颜 济, 杨俊良. 普通小麦与新麦草属杂种的产生及细胞遗传学研究[J]. 遗传学报, 1992, 19(4): 322-326.
- [2] “中国生物多样性保护行动计划”总报告编写组. 中国生物多样性保护行动计划[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1994. 92.
- [3] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987. 27-29.
- [4] 徐是雄, 朱 徽. 小麦形态和解剖结构图谱[M]. 北京: 北京大学出版社, 1983. 37-43.
- [5] LASER K D, LERSTEN N R. 1972: Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms[J]. Bot. Rev., 1972, 38: 425-454.
- [6] 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(*Triticum aestivum* L.)花药和花粉发育的细胞形态学观察[J]. 植物学报, 1976, 18(2): 141-149.
- [7] PANCHAKSHARAPPA M G, RUDRAMUNIYAPPA C K. Localization of nucleic acid and insoluble Polysaccharides in the anther of *zea mays* L.; a histochemical study[J]. Cytologia, 1974, 39: 153-160.
- [8] CLEMENT C, CHAVANT L, BURRUS M, et al. Anther starch variation in *Lilium* during Pollen development[J]. Sex Plant Report, 1994, 7(6): 347-351.
- [9] KATLIR Y, GIDDANAVAR H S, SHAMALA N, et al. Persistence of callose and tapetum in the microsporogenesis of genic male sterile *cajanus cajan* (L.) millsp with well formed endothecium[J]. Cytologia, 1994, 59: 65-72.
- [10] 岳 明, 张林静, 马 凯, 等. 华山新麦草濒危原因及种群繁殖对策[J]. 生态学报, 2001, 21(8): 1314-1320.

(编辑 徐象平)

育系花粉败育, 表现为药室内壁纤维层组织十分发达, 华山新麦草有类似现象。根据我们观察, 华山新麦草在花粉发育近双核时, 药室内壁纤维状加厚, 并贮存大量颗粒状物质, 这些物质可能部分来源于绒毡层。绒毡层外接药室内壁, 内邻花粉粒, 因此, 它提供的养料同时被药室内壁和花粉粒吸收, 由于药室内壁强烈的加厚和大量颗粒状物质储积, 从而绒毡层提供的营养较多地转向位于其外侧的药室内壁, 有可能导致位于内侧的小孢子争取不到足够的发育需要的营养, 而使原生质体收缩变形, 以致解体, 最后花粉粒空瘪败育。因此, 可以认为, 花粉发育后期的营养竞争可能是导致华山新麦草花粉败育的主要原因。

华山新麦草濒危的原因是复杂多样的, 是其自身的生物学特性、地理环境和历史人文等因子综合作用的结果^[10]。从生殖生物学角度分析, 通过对其花粉形成过程的研究, 发现在发育后期, 部分花粉粒发育异常, 其花粉萌发率 2% 左右, 花粉异常率 60% ~ 70%, 自然条件下结实率在 10% 左右。可见花粉败育严重, 结实率也非常低, 花粉生活力低下。一般来说, 有性生殖有利于植物对不同环境的适应能力, 因而可以保证植物的兴旺发达、种族延续、长期生存。花粉的正常发育是实现受精结实有性生殖的保证。华山新麦草高比例的花粉败育对其有性生殖有影响, 但不能直接阻碍有性生殖, 这可能不是构成华山新麦草濒危的主要原因。

The microsporogenesis and male gametophyte development of *psathyrostachys huashanica* Keng

ZHANG Lin-jing^{1,2}, WANG Li¹, LI Zhi-xuan¹, ZHAO Gui-fang¹

(1. College of life science, Biodiversity research center of Qinling Mts., Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Department of Biology, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China)

Abstract: The microsporogenesis and the male gametophyte development of *psathyrostachys huashanica* Keng were observed by means of paraffin, SEM (Scanning Electron Microscope) and others. The results show that microsporal mother cells divide according to successive type, tetrads range symmetrically, pollens get mature at 3-celled stage, these characteristics are in line with that of *Triticum*. At the late period of pollen development, nutritional competition between endothecium and pollen grains is probably the main reason for pollen abortion near two-celled stage. Pollen partly aborting has impact on sexual reproduction, but cannot directly prevent from it. Therefore, pollen abortion is probably not the main reason for endangering of *psathyrostachys huashanica* Keng.

Key words: *psathyrostachys huashanica*; microsporogenesis; male gametophyte formation; pollen abortion

图 版 说 明

图版 I : 1. 雄蕊原基 $\times 1\ 043$; 2. 孢原细胞 $\times 1\ 289$; 3. 发育中的药壁 3 层细胞 $\times 1\ 100$; 4. 完全分化的药壁 $\times 1\ 360$; 5. 小孢子母细胞准备减数分裂 $\times 1\ 785$; 6. 减数分裂中期 I (纵切) $\times 1\ 600$; 7. 四分体 (纵切) $\times 2\ 400$; 8. 横切面上看到四分体的 2 个小孢子 $\times 1\ 218$; 9. 同一花粉囊减数分裂同步 $\times 1\ 760$; 10. 单核花粉粒 $\times 1\ 412$;

图版 I : 11. 二细胞时期花粉粒 $\times 1\ 187$; 12. 二胞花粉粒原生质体收缩细胞变形 $\times 1\ 120$; 13. 横切面上成熟花粉粒 $\times 973$; 14. 纵切面上成熟花粉粒 $\times 1\ 116$; 15. 两条眉状精子呈“八”字形排列 $\times 1\ 200$; 16. 发育前期药室内壁储存大量颗粒状物质 $\times 1\ 230$; 17. 发育后期颗粒状物质减少, 只围绕在细胞壁周围 $\times 1\ 556$; 18. 药室内壁纤维状加厚, 表皮波曲具锯齿 (横切) $\times 1\ 293$; 19. 纵切面上药室内壁纤维状加厚 $\times 1\ 023$; 20. 乌氏体 $\times 5\ 000$; 21. 乌氏体 $\times 2\ 000$

· 学术动态 ·

我校“国家基础学科人才培养基地”建设成效显著

近年来, 我校把基地作为学校的“特区”和“211 工程”重点学科建设项目, 累计投入 1 032 万元专项经费, 用于基地的各项建设。与此同时, 学校和基地对院系所在基地专业进行了深层次的教学改革。比如: 改革招生制度、采取招收优秀保送生、实行提前单独录取、减免学杂费等措施, 多渠道吸引优秀生源; 配备具有高级职称的教师承担教学工作, 实行班主任和导师双重管理制, 精心组织教学, 强化教学管理; 在借阅图书、扩大奖学金比例等方面, 给予基地班政策上的倾斜, 实行本科—硕士分流培养, 把激励与竞争机制引入学生的学习中。

这些改革措施取得了可喜成果, 基础学科专业的生源有了保证, 人才培养质量不断提高。从 1994 年起, “基地”专业学生的入学成绩比重点院校录取分数线平均高出 40 分以上。从考取和保送研究生的比例来看, 基地班已毕业的 246 名学生, 有 161 名学生攻读硕士学位, 占学生总数的 65.4%; 物理学首届基地班毕业 16 名硕士生, 14 名报考攻读博士生, 全部被录取, 其中 85% 考入国家一流科研院所和重点高校, 第二届基地班毕业的 14 名硕士生, 今年又全部考取博士生。另外, 一些特优人才也已脱颖而出。对此, 教育部和社会给予了广泛肯定和赞誉, 《中国教育报》、《光明日报》、《中国青年报》等媒体, 都多次对我校基础性人才培养所取得的成绩进行了报道。在教育部和国家自然科学基金委组织的两次基地中期评估中, 我校 4 个基地都顺利通过了国家评估, 地质学基地还取得了优秀的好成绩。

(薛 鲍)

图版 I 张林静等: 华山新麦草小孢子发生及雄配子体的形成

