

## 草地早熟禾无融合生殖现象的研究\*

李和平 孙蒙祥 蔡得田 王灶安

(华中农业大学, 武汉 430070)

**提 要** 本文应用石蜡切片和子房整体染色透明法研究了草地早熟禾 (*Poa pratensis* L.) 的无融合生殖现象, 结果表明, 草地早熟禾的胚胎发育分为两种类型。一种是由孤雌生殖形成胚, 即卵细胞分裂较早形成幼胚, 少数胚囊中的一个或两个助细胞也分裂较早, 同时形成幼胚, 但两个极核并不融合, 三个反足细胞明显增大。由孤雌生殖形成胚的约占观察总数的66%, 其中3%为双胚, 仅一个是三胚。在成熟种子中也有两个成熟胚并生的现象。另一种是形成胚和胚乳, 约占34%。34%中形成种子有两种可能的途径, 一是通过有性生殖形成种子, 二是由孤雌生殖形成的胚和极核受精形成的胚乳共同组成的无融合生殖种子。本研究还首次观察到早熟禾不完整的双胚囊结构。

**关键词** 无融合生殖; 孤雌生殖; 草地早熟禾

水稻等栽培作物杂种优势的广泛利用, 大大提高了粮食产量, 降低了生产成本。然而由于杂种优势在有性繁殖中随自交而衰退, 生产上迫切需要寻找一种能固定杂种优势的途径。被子植物的无融合生殖可以完全或部分代替有性周期<sup>[5]</sup>, 因而它提供了一种通过种子进行植物无性繁殖的办法, 作为植物育种的手段<sup>[5, 6]</sup>。

禾本科植物无融合生殖的研究起步较早, Muntzing 首次报道了在草地早熟禾 (*Poa pratensis* L.) 中有无融合生殖种子的形成<sup>[14]</sup>, 后来在画眉草属 (*Eragrostis* Beauv. uv.)、黍属 (*Panicum* L.)、雀稗属 (*Paspalum dilatatum* Poir.)、蒺藜草属 (*Cenchrus ciliaris* L.)<sup>[8]</sup>、及高粱属 (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)<sup>[7, 9-12]</sup> 中均发现有无融合生殖类型。在目前的研究中, 发现水稻中也存在无融合生殖现象, 但频率极低。因此, 研究水稻近缘野生种无融合生殖的形成机制及其规律, 将其转移到水稻中加以利用, 这是国内外植物遗传育种家的愿望<sup>[8]</sup>。有关栽培作物近缘种无融合生殖材料的研究, 目前国内还未见报道。为了寻找和筛选适于固定水稻杂种优势的无融合生殖类型, 我们从胚胎学角度研究了草地早熟禾的无融合生殖现象, 以期确定其无融合生殖的类型、胚和胚乳的来源, 为植物育种工作开辟新的途径提供依据。

本文于1989年5月15日收到。

\* 国家863课题资助。

## 材料与方 法

试验于1988年进行。供试材料草地早熟禾 (*Poa pratensis* L.) 主要来自省畜牧局 (系国外引种), 部分材料来自江西庐山 (国内野生种)。于4—6月分别采集花序刚刚抽出, 未开花, 正开花, 及花后直到种子成熟不同时期的材料, 用甲醇:冰醋酸 (3:1) 固定24小时, 70%甲醇保存。将供试材料分成两组进行胚胎学观察, 一组材料用爱氏苏木精整染, 常规石蜡切片, 切片厚度为8—12微米。另一组材料经固定后, 在70%甲醇中仔细剥出不同发育时期的子房, 经爱氏苏木精浅染, 用冬青油透明<sup>(1,13)</sup>, 整体装片检查, 切片及透明子房用 Olympus vanox 万能显微镜进行摄影。

## 结果与分析

在所观察的材料中, 可清楚地看到草地早熟禾的成熟胚囊为具有一个卵细胞、两个助细胞、两个极核和三到好几个反足细胞的蓇葖型胚囊。其胚和胚乳的来源、发育有以下几种途径。

### 1. 胚的来源

(1) 由孤雌生殖形成胚 大量切片和整体透明子房的观察表明, 草地早熟禾在形成成熟胚囊以后, 大部分胚囊中的卵细胞分裂较早。当极核和反足细胞都清楚可见时, 卵细胞已经分裂形成多细胞的原胚 (图版 I: 1), 根据石蜡切片材料的统计, 此类型占观察总数的66%。

(2) 由卵细胞、助细胞分别形成胚 在孤雌生殖的材料中, 从少数胚囊中还看到了卵细胞和助细胞同时分裂较早的情况。当极核和反足细胞清楚可见时, 又有以下两种情况, 一是在珠孔端具有两个多细胞的原胚 (图版 I: 2), 一个由卵细胞分裂而来, 另一个由助细胞分裂形成。二是在珠孔端具有三个原胚 (图版 I: 3), 即一个卵细胞胚和两个助细胞胚, 卵细胞胚和助细胞胚的形态与合子胚相似, 但这两种类型出现的频率较低, 其中两个胚的占观察数的3%, 只有一个胚囊中具三个原胚。

### 2. 胚和胚乳的发育及成熟胚的类型

(1) 一粒种子只形成一个胚, 其与正常胚、胚乳的发育完全相同, 胚的发育由原胚经胚分化, 直至成熟胚的形成。胚乳的发育由游离核到胚乳细胞的形成。总共占观察数的34%。

(2) 少数成熟种子中有两个并生的成熟胚和发育正常的胚乳, 但远离胚乳的一个胚其盾片分化不明显 (图版 I: 4)。

(3) 大部分胚囊的卵细胞形成原胚后, 两个极核长时间不融合, 也未见胚乳形成 (图版 I: 1, 2, 3), 最终不能形成种子。

### 3. 反足细胞

在有胚和胚乳的种子形成时, 反足细胞一般消失。而在具孤雌生殖的胚形成时, 反足细胞明显增大, 呈球形或肾形, 细胞质变浓, 具多核, 有的有明显的液泡。在子房整体透明材料中, 常可看到反足细胞有柄的结构, 有柄的反足细胞往往与珠心组织相连 (图版 I: 5, 6)。

#### 4. 关于胚囊的异常情况

1. 在草地早熟禾中, 多数材料为一个胚珠中有一个蓼型胚囊, 但也有多胚囊现象。从整体透明的子房中, 可见在胚珠内有结构完整的多胚囊, 胚囊数有2—4个, 多数有2个胚囊, 这2个胚囊的结构与正常的蓼型胚囊相似, 但多胚囊在胚珠中的位置、极性、极核数目与正常胚囊不同。同一胚珠中有两个极性完全相反的胚囊, 一个胚囊位于珠孔端, 与一般胚囊的位置相同。另一胚囊位于合点端, 而卵器靠近合点端, 反足细胞位于胚珠中心, 两者之间有2—4个极核。在两个极性相反的胚囊中, 同样也观察到孤雌生殖的现象, 即珠孔端和合点端各有一个多细胞的原胚, 而两个胚囊中的极核、反足细胞清楚可见(图版I: 7)。

2. 除了多胚囊现象以外, 还观察到有的胚囊无卵器和反足细胞的分化, 所有的核都分散在胚囊中(图版I: 8)。

#### 5. 关于胎生苗

在我们所观察的草地早熟禾种群中发现有胎生苗。当整个花序还是绿色时, 花序上已长出多个幼苗, 幼苗大小不等, 有的刚露出胚芽鞘, 有的已分化出2—3片真叶, 除没有根的分化外, 其余均与正常幼苗完全一样(图版I: 9)。

## 讨 论

#### 1. 关于胚的起源

(1) 孤雌生殖形成胚 上述试验结果表明, 草地早熟禾胚胎发育过程中, 卵细胞具有高的孤雌生殖能力, 胚的来源大多数是由于卵细胞分裂较早, 由孤雌生殖形成胚。本研究结果与 S. Asker<sup>(4)</sup>、Akerberg<sup>(14,15)</sup>、Tinney、Håkansson<sup>(16)</sup> 所观察的结果基本相同。Akerberg 用草地早熟禾5个无融合生殖品系的研究结果表明, 有4个品系可自发形成胚, 而且卵细胞的分裂比极核融合要早得多。但究竟是单倍体孤雌生殖还是二倍体孤雌生殖, 还可通过对大、小孢子的发育及染色体计数的研究进一步证实。据 Muntzing<sup>(14)</sup> 对草地早熟禾双生苗的研究认为, 在该种中具有未减数的雌配子体。Akerberg 的研究中也曾提出有无孢子胚囊的形成, 他认为由于珠心细胞占据了胚囊母细胞的位置, 随后这个细胞形成了一个具正常结构的胚囊<sup>(14)</sup>。因此, 在草地早熟禾中, 有单倍体和二倍体孤雌生殖同时并存的可能性。二倍体孤雌生殖比单倍体孤雌生殖更为普遍, 因为一倍体往往不能成活<sup>(6)</sup>。

(2) 关于多胚的形成 早熟禾属产生多胚的频率为8—12%<sup>(3)</sup>, 在本研究中观察到, 当成熟胚囊形成以后, 珠孔端同时形成两个或三个多细胞原胚, 在多胚形成以后, 极核和反足细胞仍清楚可见, 我们还观察了成熟种子的解剖结构, 发现一颗种子具有两个成熟胚, 从而推测这两个幼胚都有可能发育为成熟胚, 具双胚的种子也可能是无融合生殖形成的。Akerberg 报道, 无融合生殖产生双苗的频率是有性生殖的三倍(9.8:3.4)<sup>(14)</sup>。Nishimue、Andersen 和 Armstrong 的研究结果都表明草地早熟禾中有多胚现象。Nishimue 认为多胚来源于一个不定胚, 并认为这是害虫侵袭所致。Andersen 和 Armstrong 则认为多胚是由姊妹大孢子或不同的胚囊母细胞发育而来的<sup>(14)</sup>。本研究结果证明, 多胚来源可能有两途径, 一是同一胚囊的卵细胞, 助细胞未经受精各自分裂同时

发育形成胚；二是同一胚珠内不同胚囊的卵细胞孤雌生殖而形成假多胚。

## 2. 胚乳的来源

Åkerberg、<sup>(14,15)</sup> Håkanson<sup>(16)</sup>、S. Asker<sup>(6)</sup> 的研究中指出，无融合生殖材料中，胚可以通过自发的孤雌生殖形成，而胚乳是由极核受精发育而成的。当不发生受精时，胚乳则不能形成。本试验结果明显地分为两种情况，即在多细胞原胚形成以后，一是两个极核长时间不融合，反足细胞明显增大，细胞质变浓，这表明极核没有受精则不能形成胚乳，也不能形成正常的种子。在孤雌生殖不形成胚乳时，反足细胞形态变化较大，特别是有柄与珠心组织相连的情况与胚的发育有什么关系，还有待于进一步研究。另一种方式则有胚乳的形成。从整个胚胎发生的情况看，较小的材料中，大多数原胚形成较早，极核未融合，因此推测胚乳的发育是在多细胞原胚形成以后，极核再受精后形成的胚乳，最后由孤雌生殖形成的胚与极核受精后形成的胚乳组成无融合生殖种子<sup>(14)</sup>。

无融合生殖机制为在种子繁殖的作物中培育和利用优良基因提供了独特的机会。近年来曾在有性作物和有亲缘关系的无融合体间进行了杂交试验。这类实验向人们提供了有价值的理论资料，并证明有可能向有性生殖植物中引进和操纵无融合生殖繁殖。如玉米与磨擦禾、小麦与无融合生殖植物 *Agorpyron scabrum* 杂交。因此在水稻育种中广泛利用具有无融合生殖特性的近缘野生种是很有意义的工作。

## 参 考 文 献

- 1 杨弘远. 植物学报, 1986; 28(6): 575—581
- 2 胡适宜. 被子植物胚胎学, 北京: 人民教育出版社, 1983; 216—235
- 3 赵世绪. 作物胚胎学, 北京: 农业出版社, 1982; 189—214
- 4 P. 玛海希瓦里. 被子植物胚胎学引论, 北京: 科学出版社, 1966; 313—357
- 5 Asker S. *Hereditas*, 1979; 91: 231—240
- 6 Asker S. *Hereditas*, 1980; 93(2): 277—293
- 7 Hana W W, Schertz K F et al. *Science*, 1970; 170: 338—339
- 8 Hana W W, Bashaw E C. *Crop sci*, 1987; 27: 11—12: 1136—1139
- 9 Murty U R, Schertz K F et al. *Indian J Genet*, 1979; 39(2): 271—278
- 10 Pepin G W, Funk C R. *Crop Sci*, 1971; 11: 445—448
- 11 Rao N P G, Murty U R. *Indian J Genet*, 1972; 32: 379
- 12 Tang C Y, Schertz et al. *Bot Gaz*, 1980; 141: 294—299
- 13 Young B A, Shewood R T et al. *Can J Bot*, 1979; 57: 1668—1672
- 14 Åkerberg E. *Hereditas*, 1939; 25: 359—370
- 15 Åkerberg E. *Hereditas*, 1943; 29: 199—201
- 16 Håkansson A. *Hereditas*, 1942; 28: 25—61

## RESEARCH ON APOMIXIS IN KENTUCKY BLUEGRASS

Li Heping, Sun Mengxiang, Cai Detian, Wang Zaoan

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

**Abstract** Paraffin method and whole ovary stain-clearing technique were used to study apomixis in Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.). The results show that embryonic development in Kentucky Bluegrass is divided into two types, (1) Embryo is from parthenogenesis. Egg cells divided early and formed young embryos, one or two synergids in a few embryo-sacs divided also early and formed young embryos simultaneously. But two polar nuclei did not fuse. Three enlarged antipodal cell. The frequency of this type of embryo occupies 66% of the total, 3% of which is double-embryo and only one tri-embryo is found. There are two mature embryos in a seed. (2) Embryo and endosperm form normally. This type accounts for about 34% of the total. These 34% of seeds are formed in two possible ways in our study. One is by sexual reproduction, whereas another is by apomixis. In which seed formation with embryo and endosperm is resulted from parthenogenesis. The intact double embryo-sacs were first observed in this experiment.

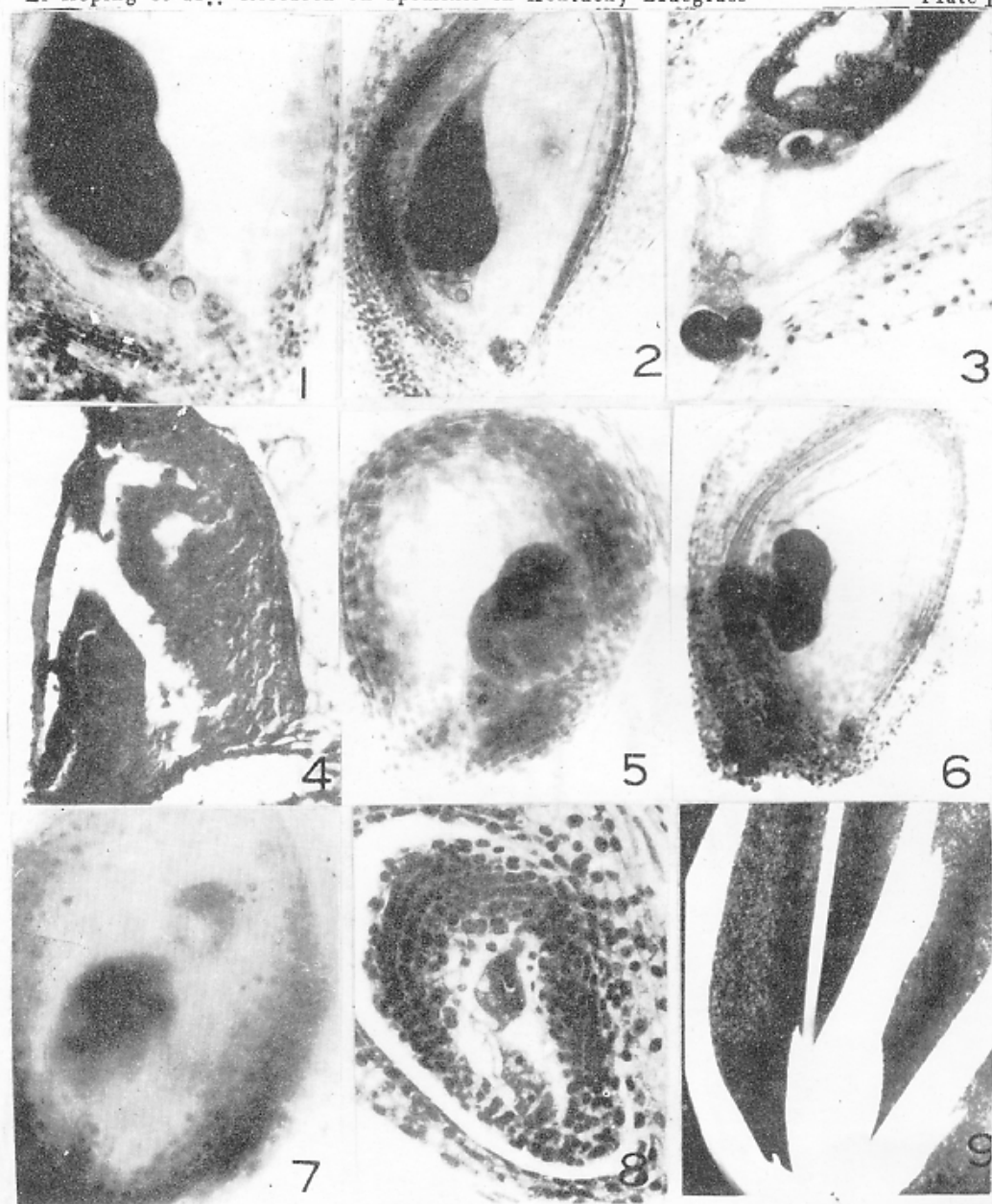
**Key words** Apomixis, Parthenogenesis, Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.)

### Explanation of plate

#### Plate I

1. One proembryo, two polar nuclei and antipodal cells.  $\times 210$
2. Two proembryos, two polar nuclei and antipodal cells.  $\times 210$
3. Three proembryos, two polar nuclei and antipodal cells.  $\times 210$
4. Double embryos in a mature seed.  $\times 180$
5. Globular antipodal cells linked with nucellar tissues.  $\times 210$
6. Kidney antipodal cells linked with nucellar tissues.  $\times 210$
7. Reversed double embryo-sacs with a proembryo in each.  $\times 210$
8. Embryo-sac fulfilled with undifferentiated cells.  $\times 210$
9. Embryonic seedlings on the panicle.  $\times 5$

1,2,5,6,7 Whole ovary stain-clearing; 3,4,8 Paraffin method



1. 1个原胚, 2个极核及反足细胞群。×210 2. 2个原胚, 2个极核及反足细胞群。×210 3. 3个原胚, 2个极核及反足细胞群。×210 4. 成熟种子中的双胚。×180 5. 球形反足细胞群与珠心组织相连。×210 6. 肾形反足细胞群与珠心组织相连。×210 7. 极性相反的双胚囊, 两胚囊各有一原胚。×210 8. 胚囊充满着未分化的细胞。×210 9. 花序上的胎生苗。×51, 2, 5, 6, 7. 子房整体染色透明; 3, 4, 8. 石蜡切片