

甜菜无融合生殖单体附加系 M14 雌配子体发育的超微结构观察

尚娅佳¹, 申家恒¹, 郭德栋², 李伟¹, 丁常宏¹, 陆俊萍¹

(¹哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨 150025; ²黑龙江大学生命科学学院生物工程系, 哈尔滨 150080)

摘要:【目的】阐明甜菜无融合生殖单体附加系 M14 雌配子体发育的超微结构特征。【方法】以甜菜无融合生殖单体附加系 M14 (*Beta vulgaris* L. VV+1C, 2n=18+1) 为实验材料, 利用电子显微镜技术对其雌配子体的发育过程进行研究。【结果】甜菜无融合生殖单体附加系 M14 为兼性无融合生殖体, 二倍体孢子生殖为蝶须型 (*Antennaria*-type) 和非型 (*Allium odorum*-type), 有性生殖为蓼型 (*Polygonum*-type)。蝶须型为主要发育方式, 超微结构特征为: 雌配子体发育速度较快, 从功能大孢子直到细胞化雌配子体时期, 细胞器的种类与数量呈现增长趋势: 细胞核核仁较大, 存在核仁泡, 核孔明显; 核糖体数量多; 线粒体的数量一直较多, 从二核雌配子体出现内嵴, 膜的结构变得清晰, 八核雌配子体的线粒体基质呈电子透明状, 细胞化后期恢复到原来的状态; 质体的数量变化不大, 形状多样, 有的含淀粉粒; 内质网呈分枝的管状或交织成索状分布在细胞核、液泡或细胞壁附近; 高尔基体的数量相对较少, 但在未退化的助细胞中十分丰富, 活跃地分泌小泡; 脂滴一直都存在, 常与液泡及线粒体相互靠近; 细胞化后期, 绝大多数雌配子体的助细胞先后退化, 极少数雌配子体只有一个助细胞退化, 另一个宿存。非型与蓼型雌配子体发育速度较慢, 与蝶须型相比, 直到单核雌配子体时期未见细胞器种类与数量发生明显变化。蝶须型与非型、蓼型雌配子体仅在功能大孢子与单核胚囊时期通过是否有胼胝质壁加厚以及珠孔端有无退化的细胞痕迹进行区分。【结论】蝶须型、非型、蓼型雌配子体发育过程中的超微结构特征差异明显, 蝶须型雌配子体从功能大孢子至细胞化时期, 雌配子体体积增大, 细胞器的种类与数量随之增加, 呈现代谢旺盛状态。推测蝶须型雌配子体在其后的发育中占优势。单核雌配子体之前依据珠孔端是否有退化细胞痕迹以及有无胼胝质壁加厚可将蝶须型与非型、蓼型从结构上予以区分。非型、蓼型从功能大孢子至单核雌配子体时期, 雌配子体的体积以及细胞质的成熟程度均呈缓慢增长趋势。推测在其后的发育过程中大量退化。

关键词: 甜菜单体附加系 M14 (*Beta vulgaris* L. VV+1C, 2n=18+1); 兼性无融合生殖; 蝶须型 (*Antennaria*-type); 非型 (*Allium odorum*-type); 蓼型 (*Polygonum*-type); 雌配子体; 超微结构

The Ultrastructural Changes of Female Gametophyte During Its Development in the Apomictic Monosomic Addition Line M14 of *Beta corolliflora* in Sugar Beet

SHANG Ya-jia¹, SHEN Jia-heng¹, GUO De-dong², LI Wei¹, DING Chang-hong¹, LU Jun-ping¹

(¹College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025; ²Department of Biological Engineering, College of Life Science, Heilongjiang University, Harbin 150080)

Abstract: 【Objective】 This study explored the ultrastructural changes of female gametophyte during its development in the apomictic monosomic addition line M14 of *Beta corolliflora* in sugar beet. 【Method】 The ultrastructural changes were investigated by electron microscopy. 【Result】 The monosomic addition line M14 is a facultative apomict. The diplosporous female gametophytes are of *Antennaria* type and *Allium odorum* type sexuality is of *Polygonum* type. *Antennaria* type is the main one and its ultrastructural characteristics are that the development of female gametophyte was rapid, from the functional megaspore until the cellularized embryo sac, the category and amounts of organelles present the following growth trend, i.e. nucleolus which are more

收稿日期: 2008-12-01; 接受日期: 2009-03-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30470114)

作者简介: 尚娅佳, 硕士研究生。E-mail: expertexpert2000@163.com. 通信作者申家恒, 教授。Tel: 13936537243; E-mail: hsdshenjiaheng@yahoo.com.cn

big had nucleolus vacuoles, nuclear pores are obvious; there are many ribosome; also a lot of mitochondria in the development of female gametophyte, many tubes appear from the two-nucleate embryo sac, but transform into electron-transparent in eight-nucleate embryo sac, then recovered as former. The number of plastids was stable and their shapes were varied, some of them contained starch grains. The endoplasmic reticulum had many branches or were interwove as ropes near nucleus, vacuoles and cell walls. Dictyosomes were relatively rare in the development of female gametophyte, but abundant dictyosome which often associated with many small electron-transparent vesicles was found in the persistent synergid. Some lipid drops were always present near the vacuoles and mitochondrias. Late period of cellularized megagametophyte, two synergids successively degenerated in the great majority of embryo sacs, very few had only one degenerated synergid, with another persistent. Compared with *Antennaria* type embryo sac, the development of *Allium odorum* type and *Polygonum* type were slowly, there were no obvious changes of category and amounts of organelles until the period of one-nucleate embryo sac. Whether had degenerated cell and deposition of callose during the development of functional megaspores and one-nucleate embryo sacs were the characters distinguishing the *Antennaria*-type gametophyte of female and *Allium odorum*-type. 【Conclusion】 There were distinct characteristics during the development of *Antennaria*-type, *Allium odorum* type and *Polygonum* type gametophyte. From the functional megaspore until the cellularized embryo sac, *Antennaria* type gametophyte present high rate of metabolic activity, its volume augmented increased with category and amount of organelles. It is supposed that *Antennaria* type gametophyte dominated the afterward growth. Whether had degenerated cell and deposition of calluses before the development of one-nucleate embryo sacs were the characters distinguishing the female gametophyte of *Polygonum* type, *Antennaria* type or *Allium odorum* type. From functional megaspores to one-nucleate embryo sacs, volume and cytoplasmic mature degree of *Allium odorum* type and *Antennaria* type embryo sac present slow-moving growth trend. It is concluded that most sexual female gametophyte degenerated in later developmental stages.

Key words: monosomic addition lines of apomictic sugar beet; facultative apomixes; *Allium odorum* type embryo sac; *Antennaria* type embryo sac; *Polygonum* type embryo sac; gametophyte; ultrastructure

0 引言

【研究意义】无融合生殖是指被子植物不经减数分裂和受精作用,直接进行胚和胚乳的发育,以形成种子的生殖方式^[1]。无融合生殖的研究对农业生产和育种工作具有重要而深远的意义。【前人研究进展】植物界中,无融合生殖的现象分布很广泛,但绝大多数存在于野生植物中,重要的栽培作物中缺乏无融合生殖种质^[2-3]。要实现无融合生殖固定重要作物杂种优势,必须将野生种无融合生殖的特性转育到栽培作物中。转育的途径主要是采用栽培种与具无融合生殖特性的近缘种进行杂交、回交。笔者利用具有无融合生殖特性的野生种白花甜菜 (*Beta corolliflora* Zoss.) 与栽培甜菜 (*Beta vulgaris* L.) 杂交、回交后,选育出带有一条白花甜菜染色体的单体附加系 M14 的新种质^[4-6]。经形态学、细胞学以及胚胎学鉴定,发现单体附加系 M14 为兼性无融合生殖体,存在蝶须型与韭型的二倍体雌配子体以及单倍体的蓼型雌配子体^[7-8]。光镜水平研究表明,甜菜无融合生殖单体附加系 M14 的成熟雌配子体只占 25%,其余部分均在雌配子体发育过程中败育^[7-8]。【本研究切入点】目前,有关无融合生殖植物雌配子体发育过程的超微结构特征研究只见于单子叶植物的两种早熟禾^[11-12],而在双子叶植物中

尚是一个空白。【拟解决的关键问题】通过电镜水平研究,阐明甜菜无融合生殖单体附加系 M14 雌配子体发育的超微结构特点,为甜菜单体附加系 M14 无融合生殖的细胞胚胎学积累资料,为进一步利用甜菜无融合生殖材料进行深入的遗传学,分子生物学研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材甜菜单体附加系 M14 (*Beta vulgaris* L. VV+1C, 2n=18+1), 是以栽培甜菜的非整倍体 PT-6 (*Beta vulgaris* L. VV+1, 2n=18+1) 为母本,白花甜菜 (*Beta corolliflora* Zoss, CCCC, 2n=4X=36) 为父本进行杂交,获得真实杂种 VC88-1 (VVCC, 2n=4x=36)。利用 PT-6 回交,产生带有白花甜菜染色体的 9 种类型的单体附加系系列,其中 M14 为带有白花甜菜第 9 号染色体的栽培型单体附加系,经多年的形态学研究,该单体附加系行兼性无融合生殖^[4-6]。

试材种植于黑龙江大学植物园内,2004 年至 2006 年每年 6 月中旬至 7 月下旬摘取甜菜不同发育期的花蕾、小花进行固定。

1.2 试验方法

花蕾及小花经二钾磷酸盐缓冲液 (0.1 mol·L⁻¹, pH

7.2) 配制的 3% 的戊二醛固定液前固定至少 2 h。二钾磷酸盐缓冲液冲洗后, 经二钾磷酸盐缓冲液配制的 1% 锇酸后固定 3 h, 然后用二钾磷酸盐缓冲液冲洗, 梯度酒精脱水, 环氧树脂渗透, spurr 包埋剂包埋, 70℃ 温箱中聚合。Leica Ultracut R 型超薄切片机切片, 厚度为 70—80 nm。切片经醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染色后, JEM-1230 型透射电子显微镜观察并拍照。

2 结果与分析

甜菜无融合生殖单体附加系 M14 雌配子体的发生与发育包含二倍体孢子生殖的蝶须型 (*Antennaria-type*) 和韭型 (*Allium odorum-type*) 以及有性生殖的蓼型 (*Polygonum-type*)^[8-9]。

2.1 蝶须型雌配子体发育的超微结构

大孢子母细胞不进行减数分裂, 直接发育成功能大孢子。功能大孢子的细胞质丰富, 小液泡逐渐融合形成两个大液泡, 珠孔和合点端各一个, 此时发育成单核雌配子体 (图版 I, 1)。单核雌配子体的细胞核大, 位于中央, 形状不规则, 核仁大内有明显的核仁泡。细胞质中含有大量核糖体、质体和丰富的内质网。质体的形状多样, 有的为棒状, 有的为球状, 分散在细胞核周围的细胞质中; 管状的粗面内质网分散在细胞质各处, 有的多条平行排列, 有的呈同心环状; 液泡内分解活动较强; 在整个细胞质中都可以看到脂滴的存在 (图版 I, 2—4)。

二核雌配子体时期 (图版 I, 5、6), 二核分别位于珠孔端与合点端, 两个细胞核之间有一个大液泡, 细胞质被挤到细胞核的周围, 细胞核较大, 存在核仁泡, 核孔明显; 核糖体、质体和线粒体的数量与单核时期相比有所增加; 质体中淀粉粒减少, 有的质体中含有油滴; 线粒体膜比单核时清晰; 因其外膜附着的核糖体数量增加, 粗面内质网变得很肥大, 互相交织成索状围绕在细胞核周围; 高尔基体增多; 液泡内分解活动有所下降; 脂滴分布在线粒体附近 (图版 I, 7)。

四核雌配子体时期 (图版 I, 8、9)。雌配子体大小以及各种细胞器的数量和形态与二核时期基本相似, 4 个核大小相似均有核仁泡。粗面内质网成分支的管状分散于细胞质中; 合点端的细胞质中高尔基体的数量较珠孔端的多, 且大多呈杯状, 这可能与自噬体或液泡的形成有关 (图版 I, 10、11)。

八核雌配子体时期, 4 个细胞核靠近珠孔端, 四个细胞核靠近合点端, 但很快珠孔端和合点端各有一个细胞核移向雌配子体的中部并且紧贴侧壁, 成为上

极核和下极核 (图版 I, 12—14)。细胞核的少数部位呈锯齿状或花瓣状, 常有 2—3 个核仁。与四核时期相比, 核糖体的数量有所增加; 质体形状多样, 多数呈棒状, 有的呈球状或杯状, 未见淀粉粒的存在; 线粒体的形态变化很大, 内部常呈电子透明状, 内嵴少, 似乎处于脱分化的状态; 粗面内质网仍然呈管状分布于液泡附近; 高尔基体膜囊增多; 脂滴的含量下降 (图版 I, 15—17)。珠孔端与合点端的细胞质中都有类似于细胞壁的物质出现在小泡内。该时期很短暂, 含细胞壁物质的小泡融合, 很快形成比较完整的细胞壁。

雌配子体细胞化初期, 珠孔端形成 3 个细胞和一个上极核, 合点端形成 3 个反足细胞和一个下极核 (图版 II, 1—3)。雌配子体的细胞壁逐渐加厚, 珠孔端以及合点端的 3 个细胞之间的细胞壁存在胞间连丝 (图版 II, 9), 但与珠心细胞之间的细胞壁没有胞间连丝。珠孔端的 3 个细胞与合点端的 3 个反足细胞超微结构特征相似, 细胞核的直径约为 3—5 μm , 由于核糖体大量附着使细胞核的轮廓变得清晰, 核孔明显, 含一个核仁, 有核仁泡; 细胞质浓密, 核糖体的数量大量地增加; 质体的数量较多, 个别质体中含有淀粉粒; 线粒体的数量增加, 处于重新分化的状态, 膜清晰, 内嵴明显, 基质浓密; 粗面内质网交织成网状分散于细胞质各处, 尤其在新形成的细胞壁附近分布许多囊状的内质网以及高尔基体分泌小泡, 推测与细胞壁物质合成有关 (图版 II, 4—8)。上、下极核形态相似, 直径约 4—6 μm , 核仁大而明显, 有核仁泡, 细胞核被一薄层细胞质围绕 (图版 II, 1、3)。胚囊壁与珠心细胞之间未见胞间连丝的存在。

雌配子体细胞化后期, 两个助细胞的丝状器开始形成, 丝状器由纤维物质组成, 包括两个区域: 中心区域的电子密度很高, 纤维物质浓缩成团; 外围区域电子密度稍低一些, 纤维物质排列比较松散 (图版 II, 12)。绝大多数雌配子体的一个助细胞先退化。不久, 另一个也出现退化迹象, 在珠孔端细胞之间可见助细胞退化痕迹 (图版 II, 10、11)。极少数雌配子体中只有一个助细胞退化, 另一个助细胞宿存, 直至次生核自发分裂前退化。未退化助细胞的细胞质中线粒体数量很多, 成群分布, 内嵴十分明显; 质体与线粒体相比数量很少, 形状各异, 含有少量的类囊体膜和淀粉粒; 高尔基体丰富, 4—6 膜囊, 末端膨大且活跃地分泌小泡; 在高尔基体周围有许多由内质网形成的囊泡, 囊泡的膜上有核糖体附着, 有的囊泡与高尔基体膜相连, 周围有很多线粒体; 细胞内已形成大的液泡,

常与细胞核平行排列或靠合点端；细胞质中有脂滴的存在（图版Ⅲ，1、2）。

卵细胞的细胞核略大于助细胞，位置不定，有的靠近细胞的珠孔端，有的靠近合点端，核仁上有核仁泡的存在（图版Ⅱ，12—14）。细胞质中含有大量的核糖体和相对丰富的内质网；质体的数量较多，形状不规则，常含有一个或几个淀粉粒；线粒体的数量较助细胞中的少，但体积较大，内嵴也比较明显；高尔基体含量相对较少，有3—4个膜囊；存在一些脂滴。此时，中央细胞靠珠孔端的细胞壁已经形成壁内突，从周围的珠心组织中吸收营养以供雌配子体的发育（图版Ⅲ，1）。上、下极核在细胞化过程中或细胞化后不久就在反足细胞附近融合成次生核，次生核周围有一薄层细胞质，细胞质中分布着质体、线粒体、内质网和脂滴等细胞器（图版Ⅲ，3—5）。合点端的3个反足细胞细胞质浓密，似乎正在退化；细胞壁的厚度不均一，细胞间的壁上有胞间连丝的存在；质体相对较少，形状不规则，含有淀粉粒；线粒体膜很不清晰，内嵴少；偶见粗面内质网和高尔基体（图版Ⅲ，9、10）。

2.2 韭型雌配子体发育的超微结构

大孢子母细胞经过减数分裂Ⅰ形成二分体，但不进行减数分裂Ⅱ^[8-9]。二分体细胞形成后，珠孔端的细胞很快退化，合点端的细胞则发育为二倍体功能大孢子。二倍体功能大孢子的细胞核直径约8—10 μm，核仁较大并有核仁泡；细胞质较丰富。随其体积纵向延长，核的两端各形成一个大液泡，功能大孢子发育成单核雌配子体（图版Ⅲ，6）。珠孔端可见退化细胞的痕迹，仍为厚的胼胝质壁包围。单核雌配子体仅在珠孔端和侧壁的某些区域有胼胝质的沉积。细胞核位于细胞中央，略呈椭球状，细胞核中有一个大核仁和多个小核仁，有核仁泡；细胞质中质体和线粒体的数量较多，不规则地成群分布，有的质体中有淀粉粒，线粒体内嵴少；粗面内质网丰富，分布在胚囊壁周围的细胞质中；偶见有4—5膜囊的高尔基体；液泡内有分解物存在；有脂滴（图版Ⅲ，7、12）。

2.3 蓼型雌配子体发育的超微结构

有性生殖雌配子体发育类型为蓼型。大孢子母细胞减数分裂形成三分体或四分体大孢子，珠孔端的细胞退化，合点端的细胞发育成单倍体功能大孢子，随后液泡化成单核雌配子体。细胞质中细胞器的数量较少，偶见质体和内质网，液泡和脂滴较为常见，分解活动旺盛（图版Ⅲ，13、14）。蝶须型与韭型、蓼型

雌配子体发育的超微结构的区别在于功能大孢子与单核雌配子体时期，韭型与蓼型雌配子体的体积大小，以及细胞器种类与数量相对蝶须型要少，珠孔端存在退化细胞痕迹，并且有胼胝质的加厚。

研究中还发现大量未成熟的雌配子体都出现不同程度的退化迹象：雌配子体周围的珠心细胞极不规则；雌配子体呈椭球型，细胞质浓密，含有的细胞器很少，其结构难以辨认（图版Ⅲ，8、11）。

3 讨论

3.1 雌配子体发育超微结构特征与功能的相关性

被子植物雌配子体发育过程中的超微结构特征与功能的相关性研究报道很少，仅在少数几种植物中对不同发育时期细胞器的种类和数量的变化有简单的描述，而且这些变化在不同的植物中差别较大^[10]。对于无融合生殖植物雌配子体发育过程的超微结构研究更少，到目前为止仅对林地早熟禾（*Poa nemoralis*）和沼生早熟禾（*Poa Palustris*）二倍体孢子生殖的雌配子体发生和发育过程有过报道^[11-12]。这两种植物的雌配子体发育类型均属蝶须型，对其雌配子体发育过程中的超微结构仅限于大孢子母细胞至1—2核雌配子体时期。结果表明，细胞大小增加的同时，细胞器的种类与数量呈现增加趋势。本研究对M14的蝶须型的雌配子体从功能大孢子、单核雌配子体、二核雌配子体、四核雌配子体、八核雌配子体以及细胞化雌配子体的发育过程进行了较为详细的超微结构观察。结果表明，蝶须型雌配子体发育过程中其超微结构特点与文献报道相同，细胞核较大，外膜附有核糖体，核仁明显具核液泡；细胞质里核糖体数量多，显示核内活跃的RNA转录以及细胞质里旺盛的蛋白质合成。线粒体的数量一直较多，二核雌配子体时期，内嵴结构清晰，八核雌配子体时期，线粒体内部呈电子透明状，直到细胞化后期才恢复到原来的状态，存在线粒体脱分化与再分化过程，其意义如何，有待深入研究。质体数量变化不大，形态多样，有的含有淀粉粒，成为营养物质暂时贮藏的细胞器。内质网呈分枝的管状或交织成索状分布于细胞核、液泡或细胞壁附近，就近转运其合成的物质。高尔基体的数量相对较少，只在细胞化雌配子体里新形成的细胞壁附近分布较多，直接参与细胞壁的构建。脂滴一直存在，常与液泡、线粒体相互靠近。液泡内常含有内吞物，似乎进行某些分解活动。各发育时期一直处于代谢旺盛状态，推测其后的发育过程中由蝶须型形成的成熟雌配子体占优势。

韭型、蓼型雌配子体只能辨认功能大孢子与单核雌配子体时期, 与蝶须型同时期相比, 细胞质中细胞器的种类与数量相对较少, 代谢活性低下, 推测其后的发育过程中逐渐败育。

3.2 M14 以蝶须型雌配子体发育为主

光镜研究表明, 甜菜无融合生殖单体附加系 M14 为兼性无融合生殖体。它存在 3 种类型的雌配子体, 大孢子发生期, 蝶须型为 40%, 韭型为 50%, 蓼型为 10%^[9]; 雌配子体发育过程中, 75% 的雌配子体表现为发育迟缓或不同形式的败育, 只有 25% 的雌配子体发育正常^[8]; 4 代细胞学检查蝶须型植株传递率为 96.73%, 而韭型、蓼型等植株传递率只有 3.25%^[7]。综上所述, 蝶须型雌配子体为 M14 主要繁殖方式^[7-8]。

本研究表明, M14 雌配子体发育的超微结构特征表现为: 雌配子体在大小、增大的程度以及细胞质成熟的程度上, 蝶须型、韭型、蓼型依次呈现递减状态; 发育过程中, 代谢旺盛的蝶须型雌配子体占绝对优势, 相对处于代谢活性低下的韭型和蓼型雌配子体逐渐败育。这与光镜水平研究的结果相一致。

蝶须型、韭型与蓼型雌配子体发育进程所以不同, 推测其原因有两点: 一是蓼型大孢子母细胞进行完整的减数分裂, 而韭型大孢子母细胞只完成了减数第一次分裂, 各种细胞器要经历脱分化至再分化的过程, 因而发育进程较慢。二是蓼型雌配子体发育中, 有大量的大孢子母细胞的细胞质退化; 韭型雌配子体发育中只有部分大孢子母细胞的细胞质退化; 蝶须型雌配子体却保留了全部大孢子母细胞的细胞质进入雌配子体发育过程, 从而导致蝶须型雌配子体发育占优势。这与被子植物中单孢子、双孢子以及四孢子的雌配子体发育进程极为相似, 单孢子、双孢子雌配子体有大量的大孢子母细胞的细胞质退化, 而四孢子的雌配子体却保留全部孢子的细胞质进入雌配子体发生, 这样, 雌配子体在大小、增大的程度和细胞质成熟上显然比前两种雌配子体的发育形式更为有利^[10]。

栽培甜菜中, 雌配子体发育类型为蓼型^[13]。M14 中呈现 3 种雌配子体类型, 尤其以蝶须型雌配子体占绝对优势, 显然是由于野生种白花甜菜第 9 号染色体附加所造成, 从而影响 M14 繁殖器官的发育过程, 特别是影响雌配子体的发生与发育。

4 推论

4.1 蝶须型、韭型、蓼型雌配子体发育过程中的超微结构特征差异明显, 蝶须型雌配子体从功能大孢子至

细胞化雌配子体时期, 胚囊体积增大, 细胞器的种类和数量随之增加, 呈现代谢旺盛状态, 推测在其后的发育过程中, 蝶须型雌配子体占优势。

4.2 单核雌配子体之前, 依据珠孔端有退化细胞痕迹以及存在胼胝质壁加厚, 可将蝶须型与韭型、蓼型从结构上予以区分。韭型与蓼型雌配子体, 从功能大孢子至单核雌配子体时期, 细胞体积以及细胞质的成熟程度均呈缓慢递减趋势。推测在其后的发育过程中, 韭型和蓼型雌配子体逐渐败育。

致谢: 对美国纽约州石溪市纽约州立大学石溪分校医学院田国伟博士的论文写作指导及鲁东大学刘林德教授、王艳杰老师的电镜技术指导, 特致诚挚的感谢。

(图版及图版说明附后)

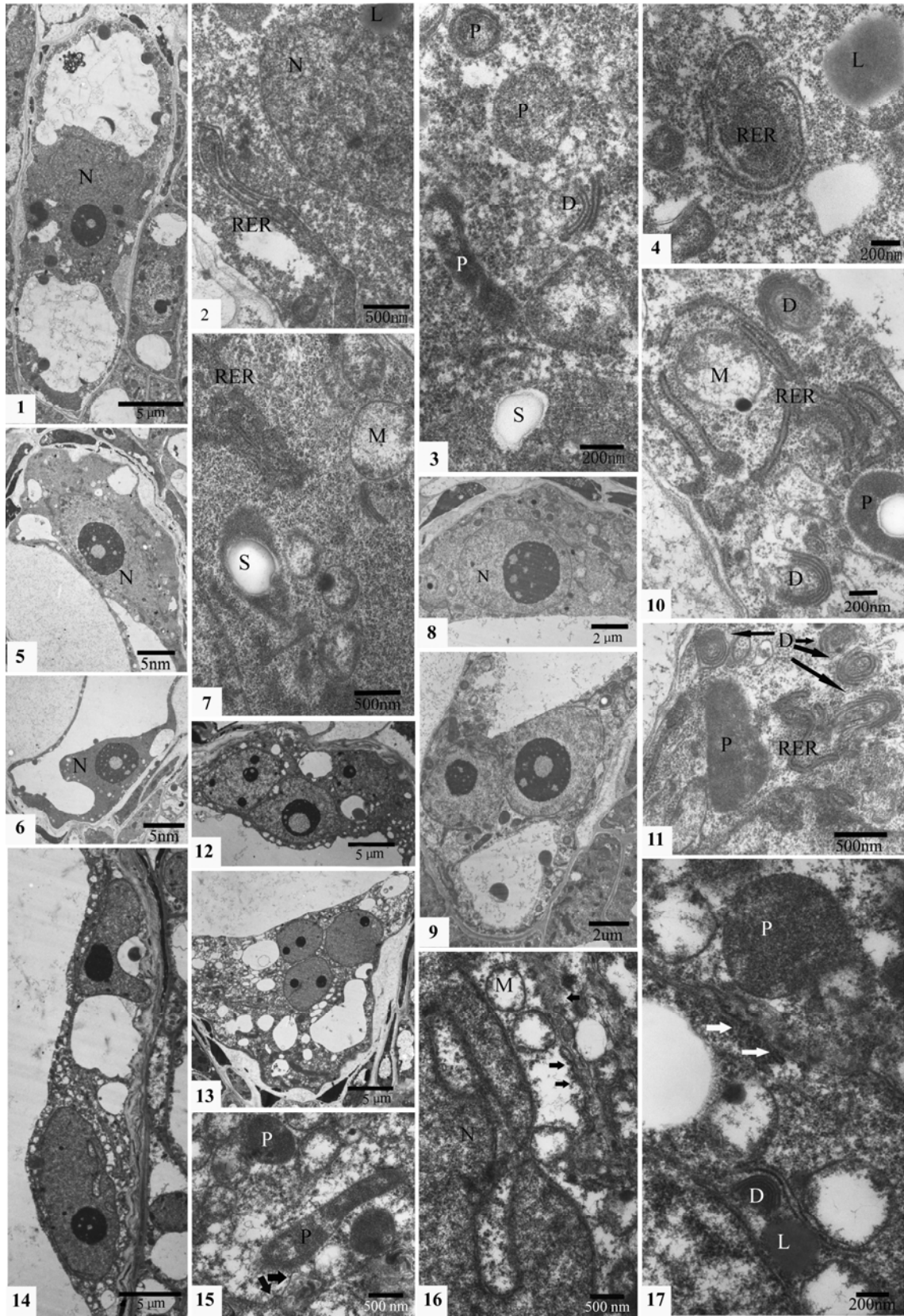
References

- [1] Bicknell R A, Kolhunow A M. Understanding Apomixis: Recent advances and remaining conundrums. *The Plant Cell*, 2004, 16: 228-245.
- [2] 母锡金, 蔡雪, 孙德兰, 时光春, 朱至清. 被子植物的无融合生殖和它的应用前景. *作物学报*, 2001, 27(5): 590-599.
Mu X J, Cai X, Sun D L, Shi G C, Zhu Z Q. Apomixis and its application prospect. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27: 590-599. (in Chinese)
- [3] 孙敬三, 刘永胜, 辛化伟. 被子植物的无融合生殖. *植物学通报*, 1996, 13(1): 1-8.
Sun J S, Liu Y S, Xin H W. Apomixis in angiosperms. *Chinese Bulletin of Botany*, 1996, 13(1): 1-8. (in Chinese)
- [4] 郭德栋, 李盛贤, 贾树彪, 康传红, 李勇. 甜菜属(*Beta* 属)种间杂交的研究. *中国糖料*, 1999(2): 1-8.
Guo D D, Li S X, Jia S B, Kang C H, Li Y. Studies on the interspecific hybridization in genus *Beta*. *Sugar Crops of China*, 1999(2): 1-8. (in Chinese)
- [5] 郭德栋, 方晓华, 刘丽萍, 康传红, 李勇, 王桂芝. 无融合生殖甜菜单体附加系的获得和鉴定. *云南大学学报*, 2000, 34(5): 1-3.
Guo D D, Fang X H, Liu L P, Kang C H, Li Y, Wang G Z. Acquisition and identification of monosomic additional lines of apomictic beet. *Journal of Yunnan University*, 2000, 34(5): 1-3. (in Chinese)
- [6] 郭德栋, 刘丽萍, 康传红. 甜菜无融合生殖单体附加系的繁殖传递特征. *黑龙江大学自然科学学报*, 2001, 18(3): 104-107.
Guo D D, Liu L P, Kang C H. Reproductive transmission property of

- monosomic additional lines of apomictic beet. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 2001, 18(3): 104-107. (in Chinese)
- [7] 申 业, 申家恒, 郭德栋, 方晓华, 刘丽萍. 甜菜单体附加系 M14 无融合生殖的细胞胚胎学研究. *西北植物学报*, 2006, 26(5): 957-963.
Shen Y, Shen J H, Guo D D, Fang X H, Liu L P. Cyto-embryological study of the apomixis of the monosomic addition line M14 in sugar beet. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2006, 26(5): 957-963. (in Chinese)
- [8] 申 业, 申家恒, 郭德栋, 方晓华, 刘丽萍. 甜菜无融合生殖单体附加系 M14 雌配子体的发生与发育. *武汉植物学研究*, 2006, 24(2): 106-112.
Shen Y, Shen J H, Guo D D, Fang X H, Liu L P. Megasporeogenesis and development of female gametophyte in the apomictic monosomic addition line M14 of *Beta corolliflora* in Sugar Beet. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2006, 24(2): 106-112. (in Chinese)
- [9] 申 业, 申家恒, 郭德栋, 方晓华, 刘丽萍. 甜菜无融合生殖单体附加系 M14 大孢子发生期间细胞壁胼胝质的变化. *作物学报*, 2006, 32(6): 894-898.
Shen Y, Shen J H, Guo D D, Fang X H, Liu L P. Dynamics of callose deposition in cell walls during megasporeogenesis in the apomictic monosomic addition line M14 of *Beta corolliflora* in sugar beet. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(6): 894-898. (in Chinese)
- [10] 胡适宜, 杨弘远. 被子植物受精生物学. 北京: 中国科学出版社, 2002: 78-115.
Hu S Y, Yang H Y. *Biology of Angiosperm Fertilization*. Beijing: Science Press, 2002: 78-115. (in Chinese)
- [11] Osadtchij J, Naumova T N. Diplospory in *Poa nemoralis* and *P. palustris*: ultra structural aspects. *Apomixis News*, 1996, 19: 6-9.
- [12] Naumova T N, Osadtchij J V, Sharma V K, Dijkhuis P, Ramulu K S. Apomixis in plants: structural and functional aspects of diplospory in *Poa nemoralis* and *P. palustris*. *Protoplasm*, 1999, 208: 186-195.
- [13] 申家恒, 李慧蓉, 殷 华. 甜菜大、小孢子发生与雌配子体发育. *作物学报*, 1986, 12(3): 205-213.
Shen J H, Li H R, Yin H. Megasporeogenesis and microsporeogenesis and the development of their female and male gametophyte in sugar beet. *Acta Agronomica Sinica*, 1986, 12(3): 205-213. (in Chinese)

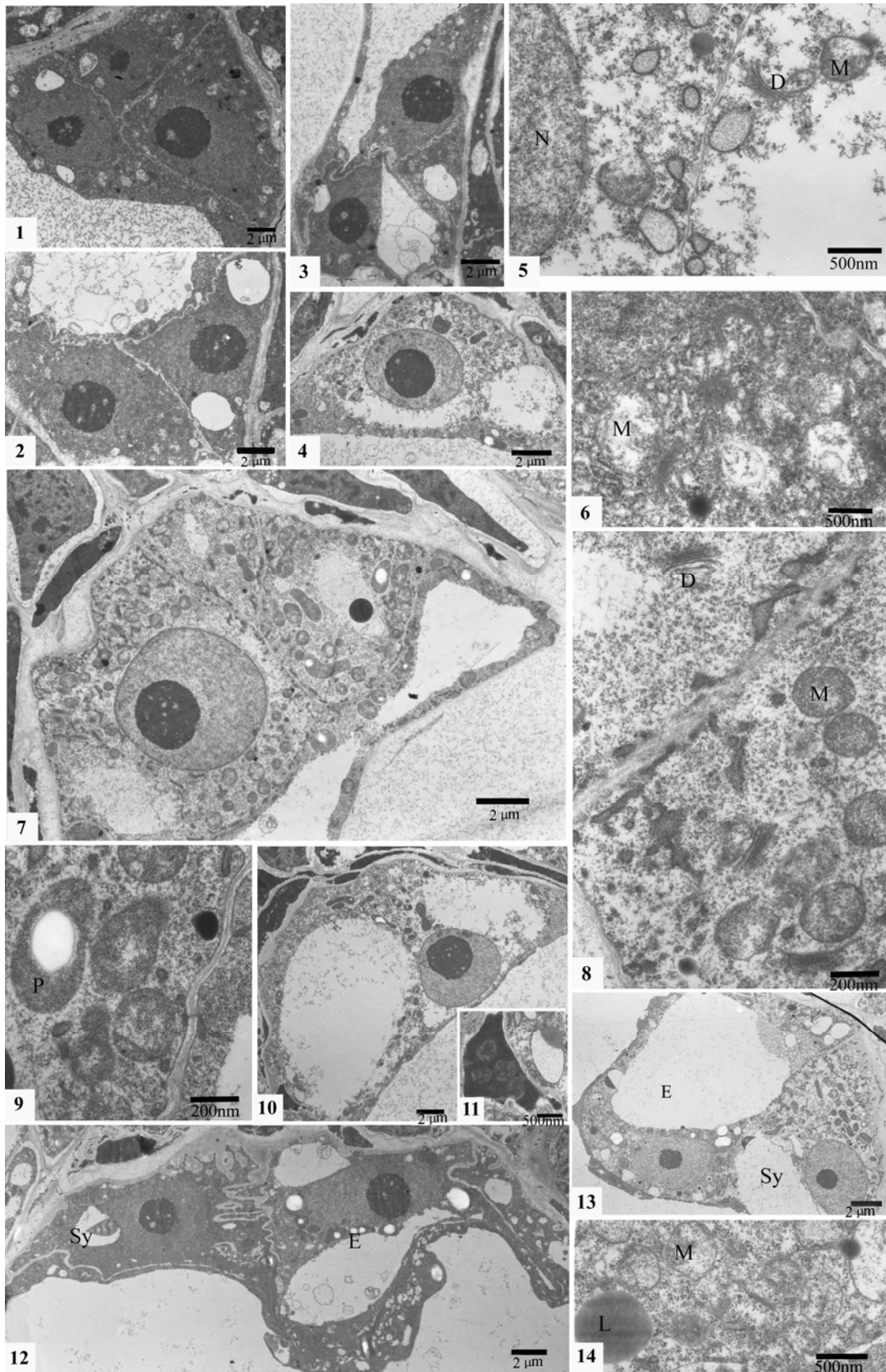
图版 I 蝶须型雌配子体的发育

Plate 1 The development of *Antennaria* type gametophyte



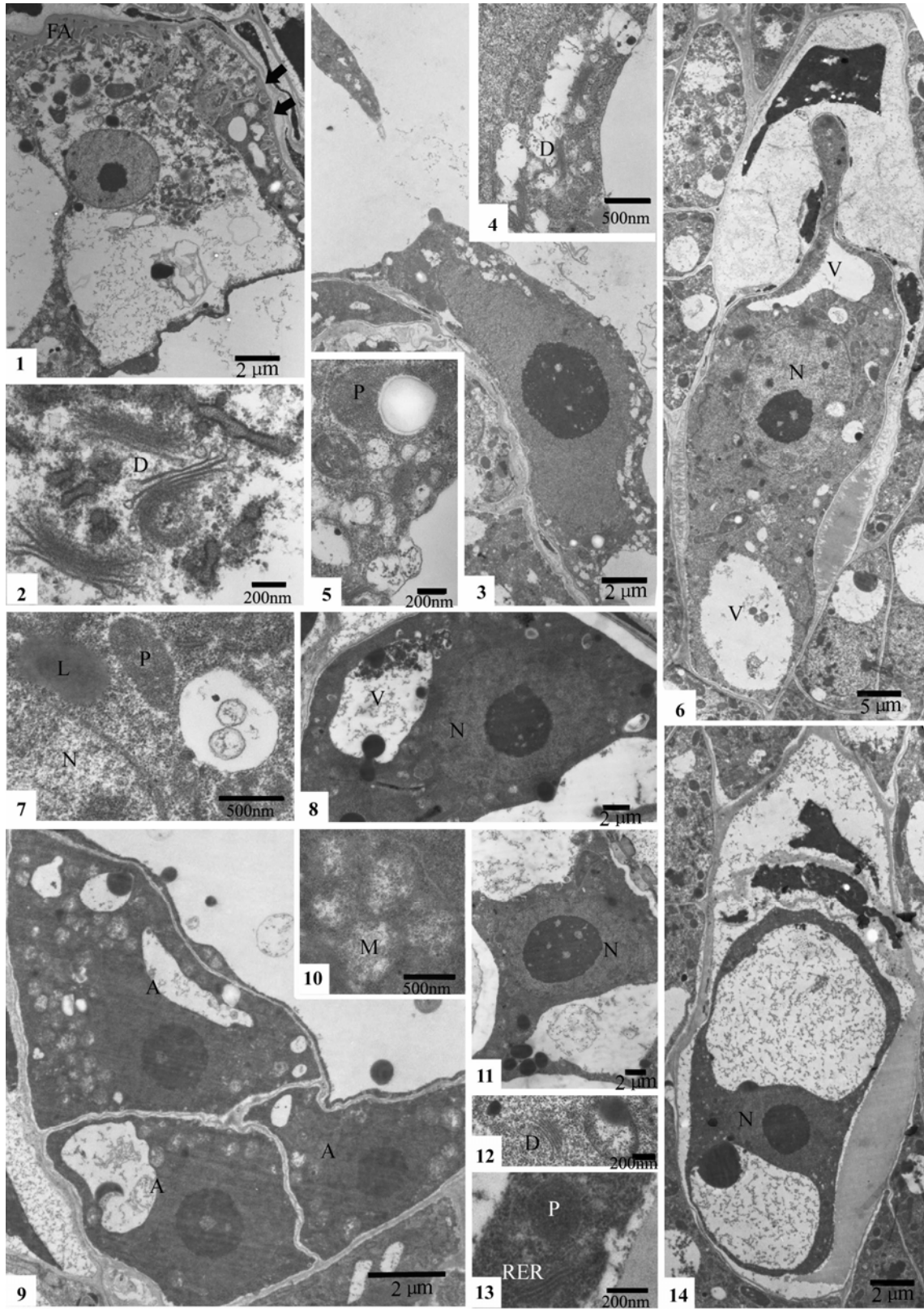
图版 II 蝶须型雌配子体发育

Plate II The development of *Antennaria* type gametophyte



图版 III 蝶须型、韭型、蓼型雌配子体发育

Plate III The development of *Antennaria* type, *Allium odorum* type and *Polygonum* type gametophyte



图版说明:

所有图示雌配子体的珠孔端朝上, 合点端朝下。A=反足细胞; D=高尔基体; E=卵细胞; FA=丝状器; L=脂滴; M=线粒体; N=细胞核; P=质体; RER=粗面内质网; S=淀粉粒; Sy=助细胞; V=液泡

图版 I 蝶须型雌配子体的发育

1. 蝶须型雌配子体的单核雌配子体, 细胞核的形状不规则, 珠孔端没有退化细胞的痕迹; 2. 图版 I-1 部分细胞质的放大, 示不规则细胞核的一部分以及细胞核附近平行排列的粗面内质网等; 3. 图版 I-1 部分细胞质的放大, 示质体、线粒体、高尔基体以及核糖体等细胞器; 4. 图版 I-1 部分细胞质的放大, 示同心排列的粗面内质网、核糖体以及脂滴等细胞器; 5. 二核珠孔端的细胞核, 核周围的细胞器丰富; 6. 二核雌配子体合点端的细胞核; 7. 图版 I-5 部分细胞质的放大, 示交织成网状的粗面内质网, 质体、线粒体以及核糖体等细胞器; 8. 四核雌配子体珠孔端的 1 个细胞核, 核周围分布质体、线粒体以及内质网等大量的细胞器; 9. 四核雌配子体合点端的 2 个细胞核, 核周围分布质体、线粒体、内质网以及丰富的高尔基体等大量的细胞器; 10. 图版 I-9 部分细胞质的放大, 示管状的粗面内质网以及线粒体; 11. 图版 I-9 部分细胞质的放大, 示质体、粗面内质网以及杯状的高尔基体; 12. 八核雌配子体珠孔端的 3 个细胞核, 含有 2—4 个核仁; 13. 八核雌配子体合点端的 3 个细胞核; 14. 八核雌配子体中央的两个核, 即上、下极核; 15. 图版 I-13 细胞核之间部分细胞质的放大, 示质体、内部呈电子透明状的线粒体、核糖体等细胞器以及类似细胞壁的物质; 16. 图版 I-14 细胞核的部分放大, 示形状不规则的核膜, 箭头示类似细胞壁的物质; 17. 图版 I-12 细胞核之间部分细胞质的放大, 示内部呈电子透明状的线粒体、脂滴等细胞器以及类似细胞壁的物质

图版 II 蝶须型雌配子体发育

1. 雌配子体细胞化初期珠孔端的 2 个细胞与上极核; 2. 雌配子体细胞化初期合点端的 2 个反足细胞; 3. 雌配子体细胞化初期合点端的 1 个反足细胞与下极核; 4. 雌配子体细胞化初期已经产生液泡的珠孔端的一个细胞, 可能分化为卵细胞, 细胞中细胞器丰富; 5. 图版 II-4 细胞壁附近部分细胞质的放大, 示细胞壁附近的高尔基体及其分泌小泡; 6. 图版 II-2 中珠孔端细胞部分细胞质的放大, 示线粒体、脂滴以及内质网等细胞器; 7. 雌配子体细胞化初期已经产生液泡的珠孔端 2 个细胞, 可能分化为 2 个助细胞, 细胞中细胞器丰富; 8. 图版 II-7 细胞壁附近部分细胞质的放大, 示内质网以及核糖体等细胞器; 9. 图版 II-7 细胞壁附近部分细胞质的放大, 箭头示胞间连丝; 10. 雌配子体细胞化时期珠孔端一个细胞以及退化助细胞的部分细胞质, 此时期丝状器还没有形成; 11. 图版 II-10, 部分退化助细胞细胞质的放大; 12. 雌配子体细胞化后期的卵细胞和助细胞, 助细胞的丝状器已经形成, 卵细胞中的质体(含淀粉粒)较多; 13. 雌配子体细胞化后期的卵细胞和助细胞, 卵细胞含有 1 个大液泡; 14. 图版 II-13 卵细胞核附近部分细胞质的放大, 示线粒体、内质网以及核糖体等细胞器。

图版 III 蝶须型、韭型、蓼型雌配子体发育

1. 蝶须型雌配子体细胞化后期的助细胞, 箭头示壁内突; 2. 图版 III-1 助细胞部分细胞质的放大, 示丰富的高尔基体及其分泌小泡、囊状的粗面内质网、核糖体等细胞器; 3. 上、下极核融合以后形成的次生核, 核仁明显, 有核仁泡的存在; 4. 图版 III-3 次生核附近细胞质的部分放大, 示丰富的高尔基体及其周围丰富的分泌小泡; 5. 图版 III-3 次生核附近细胞质的部分放大, 示质体、小液泡以及核糖体等细胞器; 6. 韭型单核雌配子体, 珠孔端有一个退化细胞的痕迹, 雌配子体中有两个大的液泡, 细胞核位于中央, 其周围分布大量细胞质; 7. 图版 III-6 细胞核附近部分细胞质的放大, 示质体、线粒体及液泡等细胞器; 8. 蓼型二核雌配子体珠孔端的细胞核; 9. 细胞化后期的 3 个反足细胞, 细胞质已经开始退化; 10. 图版 III-9 反足细胞部分细胞质的放大, 示成群的轮廓不清晰的线粒体; 11. 蓼型二核雌配子体合点端的细胞核; 12. 图版 III-6 韭型单核雌配子体部分细胞质放大, 示线粒体、内质网等细胞器; 13. 图版 III-14 蓼型单核雌配子体部分细胞质放大, 示含淀粉粒的质体、平行排列的粗面内质网、线粒体、高尔基体等多种细胞器; 14. 蓼型单核雌配子体, 珠孔端可见 2 个大孢子退化的痕迹。

Explanation of the plates

The micropyle is at the top, chalazal end on the bottom in each picture. A=antipodal cell; D=Golgi apparatus; E=egg cell; FA=filiform apparatus; L=lipid droplet; M=mitochondrion; N=nucleus; P=plastid; RER=rough endoplasmic reticulum; S=starch grain; Sy=synergid; V=vacuole

Plate I The development of *Antennaria* type gametophyte

1. Uninucleate embryo sac, the nucleus was irregular, no degenerated cells in micropylar end; 2. Part of Fig.1 with anomalous nucleolus and parallel rough endoplasmic reticulum; 3. Part of Fig.1 with plastids, mitochondria, dictyosomes and ribosomes etc.; 4. Part of Fig.1 with concentric twisted rough endoplasmic reticulum, ribosomes and lipid droplet etc.; 5. The nucleus of two-nucleate embryo sac in micropylar end with abundant organelles; 6. The nucleus of two-nucleate embryo sac in chalazal end; 7. Part of Fig.5 with meshy rough endoplasmic reticulum, plastids, mitochondria and ribosomes etc.; 8. One nucleus of four-nucleate embryo sac in micropylar end with many organelles such as plastids, mitochondria, endoplasmic reticulum etc.; 9. Two nuclei of four-nucleate embryo sac in chalazal end with many organelles such as plastids, mitochondria, endoplasmic reticulum and dictyosomes etc.; 10. Part of Fig.9 with tubal endoplasmic reticulum and ribosomes; 11. Part of Fig.9 with plastids, endoplasmic reticulum and cup-shaped dictyosomes etc.; 12. Three nuclei in micropylar end of eight-nucleate embryo sac with 2-4 nucleoli; 13. Three nuclei in chalazal end of eight-nucleate embryo sac; 14. Two central nuclei which were upper and nether pole nucleus of eight-nucleate embryo sac; 15. Part of Fig.13 with plastids, electron-transparent mitochondria, ribosomes and something like cell wall; 16. Part nucleolus of Fig.14 with anomalous karyotheca, the arrows show something like cell wall; 17. Part of Fig.12 with electron-transparent mitochondria, lipid droplet and something like cell wall

Plate II The development of *Antennaria* type gametophyte

1. Two cells and upper pole nucleus in micropylar end of early period in cellularized embryo sac; 2. Two antipodals of early period in cellularized embryo sac; 3. One antipodal and nether pole nucleus of early period in cellularized embryo sac; 4. One cell which had vacuolized and were likely to differentiate to egg in micropylar end of cellularized embryo sac with abundant organelles; 5. Part of Fig.4 with dictyosomes and cisternae near cell wall. Scale. 6. Part of Fig.2 with mitochondria, lipid droplet and endoplasmic reticulum etc; 7. Two cells which had vacuolized and were likely to differentiate to two synergids in micropylar end of cellularized embryo sac with abundant organelles; 8. Part of Fig.7 with endoplasmic reticulum and ribosomes; 9. Part of Fig.7 with plasmodesmata; 10. One cell and part cytoplasm of degenerated synergid in micropylar end of cellularized embryo sac, Filiform apparatus was not formed; 11. Part of Fig.10 with part cytoplasm of degenerated synergid; 12. The egg which had plastids with starch grains and synergid had form Filiform apparatus in cellularized embryo sac; 13. The egg which had a big vacuole and synergid of late period in cellularized embryo sac; 14. Part of Fig.13 with mitochondria, endoplasmic reticulum and ribosomes.

Plate III The development of *Antennaria* type, *Allium odorum* type and *Polygonum* type gametophyte

1. The synergid of late period in cellularized embryo sac, the arrows shows projections; 2. Part of Fig.1 with dictyosomes and cisternae, cystiform and rough endoplasmic reticulum and ribosomes; 3. Central cell with obvious nucleolus which had vacuoles; 4. Part of Fig.3 with dictyosomes and cisternae; 5. Part of Fig.3 with plastids, small vacuoles and ribosomes; 6. Uninucleate embryo sac which had two vacuoles and the nucleus was in central of *Allium odorum*-type; 7. Part of Fig.6 with plastids, mitochondria and vacuoles; 8. The nucleus of two-nucleate embryo sac of *Polygonum*-type gametophyte in micropylar end; 9. Three antipodals which cytoplasm had become degenerated of late period in cellularized embryo sac; 10. Part of Fig.9 with unclear mitochondria; 11. The nucleus of two-nucleate embryo sac of *Polygonum* type gametophyte in chalazal end; 12. Part of Fig.6 with mitochondria and endoplasmic reticulum etc.; 13. Part of Fig.14 with plastids which had starch grains, mitochondria, parallel rough endoplasmic reticulum, mitochondria and dictyosomes; 14. Uninucleate embryo sac of *Polygonum*-type gametophyte with two degenerated cells in micropylar end.

(责任编辑 于 竞)