

柿胚胎发生发育的研究

钟云¹ 刘勇^{2*} 蒋依辉³ 刘善军²¹广东省农业科学院果树研究所, 广州 510640; ²江西农业大学园艺系, 南昌 330045; ³广东省韶关学院食品系, 韶关 512005)

摘要:以甜柿品种‘卡迟莎’和涩柿品种‘高安方柿’为材料, 采用常规石蜡切片法对胚胎发生发育进行了研究。结果表明: 柿胚珠倒生, 双珠被, 薄珠心, 单孢原细胞; 大孢子四分体为直线型, 仅合点端的一个具功能作用; 蓼型胚囊, 两个助细胞具角状丝状器, 两极核在受精前融合为次生核, 3个反足细胞呈“品”字形排列; 胚胎发育属于茄型, 合子约休眠两周后开始分裂; 胚乳为核型, 花后3d开始分裂, 在球形胚早期开始形成细胞壁, 在子叶形胚期胚乳组织基本形成。在胚胎发生发育的过程中有胚乳退化, 合子不分裂等败育现象。

关键词: 柿; 胚胎发育; 胚胎学

中图分类号: S 665.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 03-0353-04

Studies on the Embryogenesis of Persimmon

Zhong Yun¹, Liu Yong^{2*}, Jiang Nonghui³, and Liu Shanjun²¹Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China; ²Horticultural Department of Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; ³Department of Food Science, Shaoguan College, Shaoguan 512005, China)

Abstract: The embryogenesis of persimmon was mainly studied on the varieties of ‘Kazusa’ and ‘Gaoan Fangshi’. Materials were dehydrated, embedded and cut in Paraffin wax. The results were as follows: Their ovules was anatropous, biteguminous and tenuinucellate, archesporium one-celled and functioning directly as the megaspore mother cell. The tetrad of megaspores was linear shaped, with the first cell from the chalazal end being functional. The development of the embryo sacs belongs to the ‘polygonum’ type. The female gametophyte consists of egg apparatus, central cell and three antipodal cells at the mature embryo sac stage. The filiform apparatus of each synergid was at the micropyle end. The double fertilization belongs to the premitotic type of syngamy. Three antipodal cells were triangularly arrayed. The embryo develops to conform the ‘Solanad’ type. Zygote began to divide after anthesis about two weeks. The development of endosperm conforms to the nuclear type. The primary endosperm nucleus began to divide 3 days after anthesis. Endosperms began to undergo cellular endosperm stage at the early globular embryo stage and almost completed at the cotyledonary embryo stage. Many abnormal phenomena were observed during the development of embryo: Endosperm abortion and the division of zygote did not occur, etc.

Key words: Persimmon; Embryonic development; Embryology

1 目的、材料与方法

柿 (*Diosyros kaki* Thunb.) 具有较高的经济价值和医疗价值^[1], 被世界各国相继引种和栽培并开展了系列的研究工作^[2]。日本曾有过柿异常胚等的报道^[3,4], 但关于柿胚胎学的研究未见详尽报道。

收稿日期: 2003-07-28; 修回日期: 2003-10-14

基金项目: 江西省自然科学基金项目 (39445)

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuyongjxau@sina.com

作者以甜柿品种‘卡迟莎’和涩柿品种‘高安方柿’为材料,对其胚胎发生发育进行了研究,目的在于为柿胚胎学的研究累积基础资料,同时为柿育种工作提供依据。

材料来自于江西农业大学果树引种园(平坦丘陵红壤土)常规管理成龄植株。2001 年从花蕾绿豆大小至果实成熟初期(着色期)从树冠中上部取样。花开前每天取样 1 次,花后 10 d 隔日取样 1 次,再后每 5 d 取样 1 次,每次取样 10~15 个,除去花萼、花瓣或种皮,并现场固定。FAA 固定液,常规石蜡制片,厚度 10~12 μm ,铁矾-苏木精染色,OLYMPUS BH-2 型显微摄影。

2 结果与分析

2.1 大孢子囊、大孢子及雌配子体的发育

两品种的胚胎发育基本相同。珠被原基在 3 月下旬形成,其后胚珠原基分化出薄珠心、内珠被和外珠被。珠心表皮下面分化出 1 个细胞核明显、体积增大的孢原细胞(图版 1),孢原细胞不分裂,直接发育成造孢细胞(图版 2),行使大孢子母细胞的功能(图版 3)。成熟胚珠完全倒生,由内外珠被组成珠孔;内珠被最内层细胞垂周分裂,径向伸长,形成一层珠被绒毡层;此后大孢子母细胞经 2 次减数分裂,分别形成大孢子二分体(图版 4)和直线排列的大孢子四分体(图版 5),其中靠珠孔端的 3 个大孢子退化,合点端的一个为功能性大孢子(图版 6),由它发育成单核胚囊(图版 7)。此时珠心组织的表皮开始分解。从造孢细胞到大孢子四分体期,胚囊的主要生长特点是伸长,但膨大不明显。

单核胚囊经 3 次有丝分裂后形成 8 核蓼形胚囊。经第一次核分裂产生两个核,两核分别移向珠孔端和合点端形成二核胚囊(图版 8);经第二次核分裂形成四核胚囊,两端分别有两个核(图版 9A、9B);随后四个核又各分裂一次,并经过移动后很快在核之间形成细胞壁,形成成熟胚囊(图版 10A、10B)。助细胞具角状丝状器(图版 10B);卵细胞梨形,中央细胞具两个核,两个极核相互靠近后,受精前融合为次生核,其位置较靠近卵器;反足细胞呈“品”字形排列(图版 11),单核,寿命短,在受精前后退化。此时珠心组织基本解体。从单核胚囊到胚囊成熟,胚囊的主要生长特点是迅速伸长、扩大。

2.2 胚与胚乳的发育

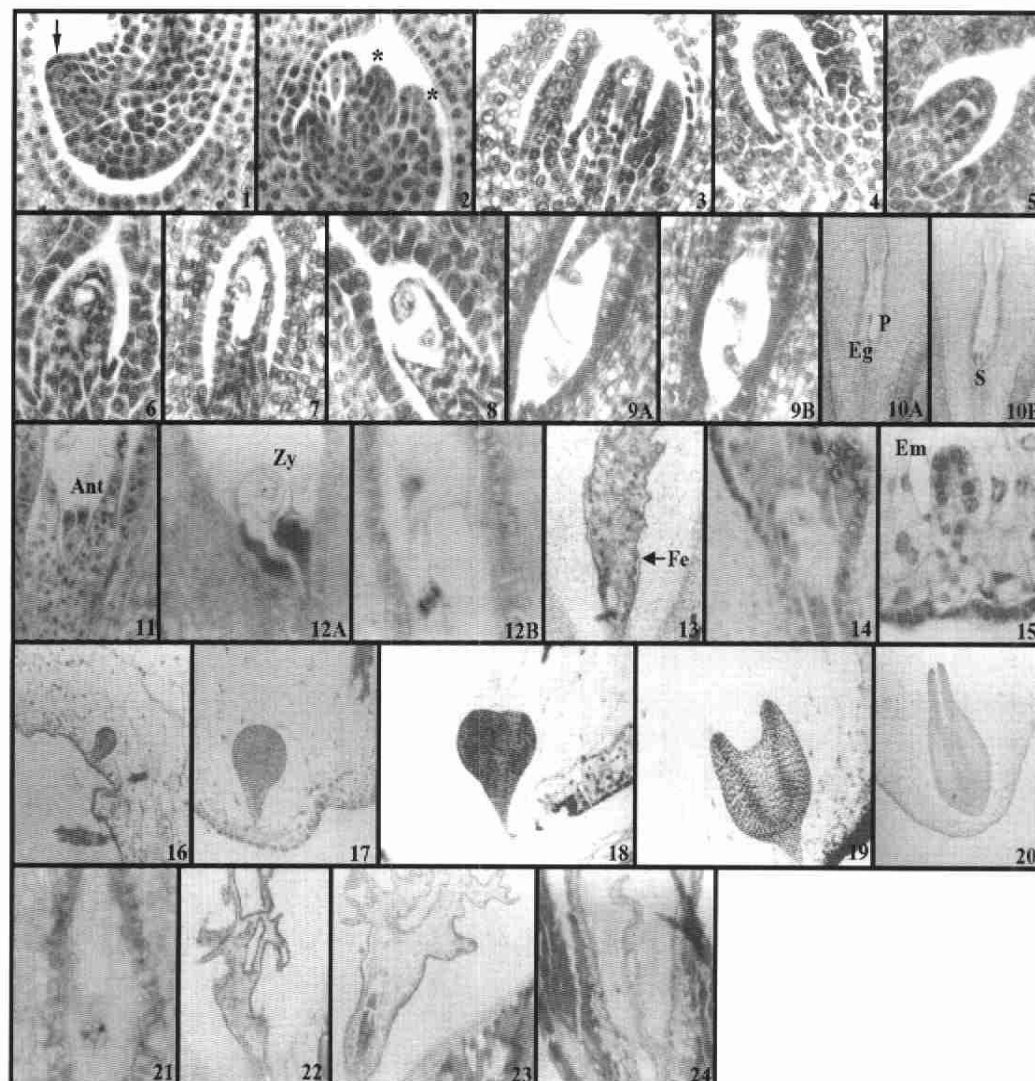
花后 2~3 d,卵细胞受精形成合子(图版 12A),合子约经过两周的休眠开始分裂,休眠后的合子体积相对变小,核明显(图版 14)。合子经 5 次分裂,在花后 18 d 形成 32-原胚(图版 15),此时基细胞分裂构成胚柄,胚柄不参与胚体的建成,柿胚胎发育属于茄型。花后 25 d,形成早期球形原胚(图版 16),此时分化出胚的原表皮层,胚柄细胞多为横向分裂,少纵向分裂。花后 35 d,形成球形胚(图版 17),随着球形胚的增大,原表皮细胞行径向分裂,整齐排列在胚的周围。在球形胚后期,胚体的顶端逐渐变平,两侧细胞分裂加快,此时子叶原基出现并迅速发育成心形胚(图版 18),而胚柄细胞开始退化。花后 45 d,子叶原基继续伸长,形成鱼雷形胚(图版 19)。花后 55 d,形成子叶形胚(图版 20),此时子叶细长、对称排列,胚根较宽,胚柄消失。此时,胚已近成熟。

次生核受精后形成初生胚乳核,它先于合子分裂。花后 3 d 初生胚乳核开始第一次分裂(图版 12B),此时合子细胞圆而大,并开始休眠,助细胞已退化,仅留残迹(图版 12A)。此后,胚乳分裂迅速,在合子分裂前后,胚囊体积扩大数十倍,其中具有大量的游离核(图版 13),因此柿胚乳为核型胚乳。在 32-原胚期,胚囊的周缘出现自由生长的壁,这是游离核开始向胚乳细胞转变^[5]。从球形原胚早期开始,胚乳不断从胚囊珠孔区向合点端和从外向内形成胚乳细胞壁(图版 16),但此时胚乳细胞的排列较松。至子叶型胚期,胚乳组织发育基本完成,此时的胚乳细胞从外到内由小而大,排列紧密(图版 20),因此柿胚乳组织成熟后具有很强的坚韧性。

2.3 胚胎发育的异常现象

在胚胎发生发育的过程中存在多种异常现象,主要有:单核胚囊中的核液化解体;卵器液化解

体; 初生胚乳核分裂异常 (图版 21); 胚乳退化, 以致合子不能分裂或分裂延迟 (图版 22)、胚囊退化 (图版 23); 胚囊萎缩退化 (图版 24) 等。这是许多柿品种中存在大量发育不全或败育种子^[6], 致使柿落花落果严重的主要原因所在。



图版说明 1. 孢原细胞 (↓), ×500; 2. 造孢细胞和珠被原基 (*), ×500; 3. 大孢子母细胞, ×500; 4. 二分体, ×500; 5. 四分体, ×500; 6. 功能大孢子, ×500; 7. 单核胚囊, ×500; 8. 二核胚囊, ×500; 9. (A、B 为连续切片) 四核胚囊, ×500; 10. (A、B 为连续切片) 成熟胚囊, ×120; 11. 3 个反足细胞, ×500; 12. (A、B 为同一切片) A 示合子, B 示初生胚乳核分裂, ×500; 13. 合子分裂前的游离核, ×120; 14. 分裂前的合子, ×500; 15. 32-原胚, ×500; 16. 球形胚早期, ×120; 17. 球形胚, ×120; 18. 心形胚, ×120; 19. 鱼雷形胚, ×120; 20. 子叶形胚, ×50; 21. 初生胚乳核分裂异常, ×500; 22. 合子不分裂或分裂推迟, ×120; 23. 早期胚退化, ×120; 24. 胚囊退化, ×120。Eg, 卵细胞; P, 极核; S, 助细胞; Ant, 反足细胞; Zy, 合子; Fe, 游离核; Em, 胚。

Explanation of plates 1. An archesporial cell (↓), ×500; 2. Sporogenous cell and with the integument primordial in appearance (*), ×500; 3. Megasporeocyte at a later stage of development, ×500; 4. A dyad, ×500; 5. A tetrad, ×500; 6. A functional megaspore, ×500; 7. A monosporic embryo sac, ×500; 8. 2-nucleate embryo sac, ×500; 9 (A - B). Consecutive transactions of 4-nucleate embryo sac, ×500; 10 (A - B). Consecutive transactions of a mature embryo sac, ×120; 11. Three antipodal cells, ×500; 12. (A and B at the same section) A zygote at 12A, the first division of endosperm at 12B, ×500; 13. Free endosperm nucleus, ×120; 14. A zygote before division, ×500; 15. 32-proembryo, ×500; 16. Early globular embryo, ×120; 17. Globular embryo, ×120; 18. Heart-shaped embryo, ×120; 19. Torpedo-shaped embryo, ×120; 20. Cotyledonary embryo, ×50; 21. Abnormal phenomenon at the first division of endosperm, ×500; 22, 23. An undivided zygote and a degenerated embryo for the degenerating endosperm, ×120; 24. A degenerated embryo sac. Eg, Egg, ×120; P, Polar nuclei; S, Synergid; Ant, Antipodal cell; Zy, Zygote; Fe, Free endosperm nucleus; Em, Embryo.

参考文献:

- 1 王万双, 罗正荣, 蔡礼鸿. 柿品种鉴定及分类研究进展. 园艺学报, 1998, 25 (1): 44~50
- 2 王华田, 尹建道. 国外柿树研究进展. 世界林业研究, 1997, 10 (3): 29~33
- 3 福井博一, 西元和男, 中村三夫. カキ '西村早生' の胚囊の发育に関する研究. 園芸学雑誌, 1989, 57 (4): 615~619
- 4 福井博一, 若山善秋, 中村三夫. カキ '西村早生' の異常胚の発生年次変動. 園芸学雑誌, 1993, 62 (1): 21~26
- 5 胡适宜著. 被子植物胚胎学. 北京: 高等教育出版社, 1982. 164
- 6 長谷川耕二郎, 永田広敏. カキ '次郎' および '前川次郎' の不完全種子の発現とその大きさ. 園芸学雑誌, 1993, 61 (4):

747~755

黄瓜雌雄花蕾不同发育时期核酸和蛋白质含量的变化

陈学好¹ 陈艳萍² 曹磊生¹ (¹ 扬州大学农学院园艺系, 扬州 225009; ² 江苏省农业科学院, 南京 210014)

Changes in Nucleic Acid and Protein Contents at Different Developmental Stages in Male and Female Flower of Cucumber

Chen Xuehao¹, Chen Yanping², and Cao Beisheng¹ (¹ Agricultural College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ² Academy of Jiangsu Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

关键词: 黄瓜; 花性别分化; 核酸; 蛋白质; 退化

中图分类号: S 642.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2004) 03-0356-01

选用黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 全雌性品系 ZQ-18 和普通品系 ZH-20, 2000 年 3 月 8 日播种, 3 叶龄时定植于扬州大学园艺场大棚内。雄花 (ZH-20) 采用压片法, 雌花 (ZQ-18) 采用石蜡切片法确定发育时期, 并迅速在液氮中冷冻, 再贮于 -35℃ 冰柜中用于测定核酸和蛋白质含量^[1~3]。

测定结果表明, 雄花蕾中 DNA 在两性期到花粉母细胞时期迅速上升 (112.67→272.67 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 单位下同), 之后一直到形成花粉粒持续下降, 随着花粉粒的进一步发育成熟, 又迅速上升 (166.67→228.66)。RNA 含量在两性期至花粉母细胞时期迅速下降 (1290.00→819.33), 之后则持续上升 (1005.33→1109.33→1215.33)。由此可见, 在雄花蕾发育早期, 花器官内核酸的变化以 DNA 大量复制为特征, 在花粉粒发育成熟过程中 DNA 和 RNA 同步上升。可溶性蛋白质的变化与 RNA 一致, 特别是花粉粒发育成熟过程中蛋白质含量显著上升 (表 1)。

雌花蕾中 DNA 含量有两次合成高峰, 一次是大孢子母细胞时期 (341.34 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 单位下同), 另一次是在大孢子时期 (236.64), 这一变化符合雌花发育的基本需求, 即为了满足细胞的减数分裂和大孢子核的连续分裂, 进行着旺盛的 DNA 复制过程。RNA 含量在两性期以后直至大孢子四分体时期均表现下降 (1230.67→916.04→480.02), 之后则迅速上升 (480.02→889.36→958.01)。若将雌雄花蕾各 5 个发育时期分别对应, 显然在雌花蕾中 DNA 的转录滞后于雄花蕾。雌花蕾中可溶性蛋白质含量明显低于雄花蕾, 变化趋势与 RNA 一致。今后可通过精细的蛋白质电泳技术分析黄瓜雌雄花蕾发育过程中的蛋白质变化, 揭示雌雄花蕾各典型发育时期的特异蛋白与性状表达之间的关系。

表 1 黄瓜雌、雄花蕾不同发育时期核酸和蛋白质含量

Table 1 Nucleic acid and protein contents at different developmental stages in male and female flower of cucumber

花 Flower	发育时期 Developmental stages	DNA ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	RNA ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	蛋白质 Protein ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
雄花 Male flower	两性期 Hermaphrodite	112.67 ± 34.08	1290.00 ± 91.85	183.71 ± 8.02
	花粉母细胞时期 Microspore mother cell	272.67 ± 30.75	819.33 ± 49.33	61.12 ± 6.46
	花粉四分体时期 Microspore tetrad	198.67 ± 15.14	1005.33 ± 27.23	62.49 ± 3.58
	花粉粒初成期 Early single pollen grain	166.67 ± 10.26	1109.33 ± 153.58	67.65 ± 1.04
	雄花成熟期 Mature male flower	228.66 ± 17.01	1215.33 ± 145.55	117.59 ± 8.95
雌花 Female flower	两性期 Hermaphrodite	214.67 ± 41.00	1230.67 ± 53.00	39.68 ± 1.55
	大孢子母细胞期 Megaspore mother cell	341.34 ± 54.31	916.04 ± 47.16	23.35 ± 0.62
	大孢子四分体时期 Megaspore tetrad	198.01 ± 2.00	480.02 ± 98.55	25.02 ± 0.48
	大孢子时期 Megaspore	236.64 ± 14.05	889.36 ± 17.47	26.81 ± 0.60
	雌花成熟期 Mature female flower	162.06 ± 5.29	958.01 ± 11.14	28.73 ± 0.36

参考文献:

- 1 薛应龙. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 44~46
- 2 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验指导. 北京: 北京大学出版社, 1990. 126~130
- 3 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 142~143

收稿日期: 2003-11-21; 修回日期: 2004-04-28