

文章编号: 1000-4025(2002) 05-1209-06

## 濒危植物红花木莲大孢子发生和雌配子体发育的研究

潘跃芝, 龚 洵\*

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

**摘 要:** 研究了濒危植物红花木莲(*Manglietia insignis* Bl.)的大孢子发生和雌配子体的发育。红花木莲每朵花心皮数为 48~73 枚, 每心皮内胚珠数 4~8 颗不等, 多数是 6 颗或 8 颗, 胚珠倒生, 双珠被, 厚珠心, 大孢子四分体线形排列, 功能大孢子位于合点端, 胚囊发育为蓼型, 胚珠具珠孔塞。成熟胚囊的卵细胞败育率高达 79.1%, 这是造成栽培红花木莲结籽率低的主要原因。较低的结籽率影响了红花木莲迁地保护的有效性。

**关键词:** 红花木莲; 大孢子发生; 雌配子体发育; 迁地保护

中图分类号: Q944.58 文献标识码: A

## Megasporogenesis, development of female gametophyte of *Manglietia insignis* (Magnoliaceae)

PAN Yue-zhi, GONG Xun\*

(Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650204, China)

**Abstract:** This paper deals with the megasporogenesis, the development of female gametophyte of *Manglietia insignis*, an endangered species in China. The ovule of *M. insignis* is anatropous, bitegmic and crassinucellate. The obturator was observed. The chalazal functional megaspore develops into a *Polygonum* type of embryo sac. The degeneration of egg cells was observed, and the abortion rate of ovules was about 79.1%. This was considered as a main factor responsible for the low seed set of cultivated *Manglietia insignis*.

**Key words:** *Manglietia insignis*; megasporogenesis; development of female gametophyte; plant ex situ conservation

收稿日期: 2001-10-19; 修改稿收到日期: 2002-01-29

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划, 云南省自然科学基金(97C088M)及中国科学院创新基地资助

作者简介: 潘跃芝(1973-), 女(汉族), 硕士。

\* 通讯联系人。Correspondence to: GONG Xun.

了解物种的生殖生物学对其有效保护是非常必要的,尤其是对那些居群和个体数量少的濒危物种<sup>[1,2]</sup>。生殖生物学已成为濒危植物保护生物学研究重点之一,它试图通过对濒危植物生殖生物学特性及影响其生殖有效性的生理、生态因子进行研究来探讨其濒危机制,并找出提高其生殖有效性的技术措施。一些研究表明,生殖过程中的许多因素都影响着一些植物的生殖有效性,如雌雄蕊发育过程中花粉和胚珠的败育、可育花粉与胚珠的比(P/O)、开花时空特性的限制、传粉机制与传粉媒介的限制、动物的破坏、资源限制以及环境条件的影响等<sup>[3-17]</sup>。

红花木莲(*Manglietia insignis*)是木兰科木莲属中较原始的种类,仅分布于我国西南和尼泊尔、印度东北部、缅甸北部,且呈零星分布状态<sup>[18]</sup>。红花木莲因其种群数量少,繁殖更新困难而列为国家三级重点保护植物<sup>[19]</sup>。昆明植物园自1985年就对其进行了迁地保护,营养生长良好,但结籽率一直较低。作者曾对昆明植物园栽培红花木莲的结籽率进行了统计,并对小孢子发生和雄配子体发育进行了研究,结果表明其小孢子发生和雄配子体发育基本正常<sup>[20]</sup>。本文对昆明植物园栽培红花木莲的大孢子发生和雌配子体发育进行了研究,讨论了雌配子体发育特性与迁地保护有效性的关系,以便为有效地保护该植物提供参考。木莲属是亚洲特有属,在胚胎学方面除LIAO等对*Manglietia glauca* var. *sumatrana*的雌配子体和胚胎发育做过简单的描述外<sup>[21]</sup>,还未见较系统的研究报道。而木兰科其它属如木兰属(*Magnolia*)、含笑属(*Michelia*)和鹅掌楸属(*Liriodendron*)自19世纪末就已经有人开始研究。因此作者对红花木莲和濒危植物香木莲的胚胎学研究(待发表)将为木莲属胚胎学系统研究提供资料积累。

## 1 材料和方法

胚胎学观察的材料和方法与前文相同<sup>[20]</sup>,切片厚度为8~12 μm。

## 2 观察结果

### 2.1 雌蕊的发育

根据对11个聚合果的统计,红花木莲每朵花心皮数为48~73枚,螺旋状排列,离生。每心皮内胚珠数4~8颗不等,多数是6颗或8颗,分两列排列,边缘胎座。成熟聚合果鲜时紫红色,卵状长圆形,背缝全裂。

**2.1.1 胚珠的发育与结构** 红花木莲胚珠倒生,双珠被,厚珠心。内珠被一般3~4层细胞,外珠被一般6~8层细胞。内外珠被共同形成珠孔(图版 ,3),在胚囊成熟时呈“之”字形。珠柄局部膨大衍生形成珠孔塞<sup>[22,23]</sup>。

**2.1.2 大孢子发生及雌配子体发育** 发育早期的胚珠,在珠心顶端的表皮下分化出1个孢原细胞,孢原细胞经有丝分裂形成周缘细胞和造孢细胞(图版 ,1),周缘细胞进行平周和垂周分裂(图版 ,2)形成珠心细胞,造孢细胞直接发育为大孢子母细胞。在珠心发育的同时,内外珠被发育并逐渐包围珠心,整个胚珠逐渐倒生,大孢子母细胞开始进行减数分裂。图版 ,3、4表示大孢子母细胞减数分裂中期。图版 ,5表示第一次减数分裂后形

成的二分体。按一般减数分裂的规律, 二分体再次分裂形成四分体。但本研究仅观察到了三分体, 即仅合点端的 1 个细胞发生减数第二次分裂, 珠孔端的二分体细胞不再分裂, 而产生三分体。合点端的大孢子发育为功能大孢子, 其余的逐渐退化掉。图版 , 6、7 是这一时期同一张切片的不同聚焦照片, 表示合点端功能大孢子、珠孔端已退化的 1 个二分孢子和 1 个四分孢子。从图版 , 7 可以明显看出, 珠孔端二分孢子的退化残迹比四分孢子的退化残迹明显要大。这在以往的木兰科胚胎学资料中尚未见报道<sup>[21, 24-26]</sup>。由于切片数量的限制, 这并不能说明在红花木莲大孢子发生过程中没有四分体产生, 也不能说明三分体所占比例比四分体高。功能大孢子继续发育, 成为单核胚囊, 单核胚囊体积增大(图版 , 8), 细胞核进行第一次有丝分裂形成两核, 在液泡的牵引下移向胚囊两端(图版 , 9)。经第二次有丝分裂, 两核形成四核, 图版 , 10、11 示同 1 个胚囊的四核。四核经再次有丝分裂产生八核。图版 , 1、2 示 1 个四核胚囊正在进行有丝分裂产生八核胚囊。八核胚囊形成后, 胚囊体积显著增大。接着, 八核发生分化, 两端各有一个细胞核移向胚囊的中央, 形成次生核(图版 , 4; 图版 , 8) 或形成含有 2 个中央极核的中央细胞(图版 , 6)。胚囊每端其余三核之间产生细胞壁, 形成 3 个细胞。合点端的 3 个细胞呈“品”字状排列(图版 , 5; 图版 , 7), 为反足细胞。珠孔端的 3 个细胞组成卵器, 包括 1 个卵细胞和 2 个助细胞, 被浓厚胚囊物质包围(图版 , 7、8、9)。图版 , 3、4 是一个完整胚囊的两张连续切片, 图版 , 5~9 是胚囊各部分的放大, 分别示反足细胞、次生核和卵器。

由此可见, 红花木莲的胚囊发育类型为单孢发生的蓼型胚囊, 发育类型与以往报道过的木兰科其它属植物的胚胎发育类型相同<sup>[21, 24-26]</sup>。

**2.1.3 退化现象** 红花木莲的成熟胚囊受精前发生卵器和反足细胞退化现象。卵器一般是 2 个助细胞先发生退化, 然后卵细胞才退化, 图版 , 1、6 示 2 个助细胞开始退化, 图版 : 9 示助细胞和卵细胞都已退化。在观察过程中发现, 有的胚囊 3 个反足细胞已经退化, 但卵器中仅有助细胞开始退化, 卵细胞还完好(图版 , 1~6), 有的胚囊中反足细胞退化之前, 整个卵器已经退化(图版 , 7~9), 这说明反足细胞与卵器在退化时间上没有联系。对卵器退化情况进行了统计。成熟胚珠共统计 263 颗, 卵器完全退化的 208 颗, 仅助细胞退化的 20 颗, 发育较好的 35 颗, 卵器退化率 $[(208+20)/263] \times 100\% = 87.0\%$ , 卵细胞退化率 $(208/263) \times 100\% = 79.1\%$ 。

### 3 讨 论

从表 1 知, 红花木莲生殖器官发育所经历时间比较长, 而且在早期雄蕊的发育快于雌蕊。在第一年 11 月花药已经分化到造孢细胞时期, 而胚珠则处于原基时期。到 12 月, 雄蕊发育到次生造孢细胞, 雌蕊处于孢原细胞或造孢细胞时期, 生殖器官分化暂时停止。到第二年 3 月随着气温回升, 生殖器官分化发育继续进行。在这段时间雌蕊发育较迅速, 4

月中旬雌雄蕊发育成熟, 花朵开放。

表 1 红花木莲大小孢子及雌雄配子体随时间发育对应关系

Table 1 Microsporogenesis, megasporogenesis, development of male and female gametophytes with the time

发育时间 Development time	小孢子及雄配子体发育 Microsporogenesis, development of male gametophyte	大孢子及雌配子体发育 Megasporogenesis, development of female gametophytes
1998年11月20日 November 20, 1998	初生造孢细胞时期 Primary sporogenous cells	胚珠原基 Ovule primordia
1999年1月30日 January 30, 1999	初生造孢细胞时期 Primary sporogenous cells	胚珠原基 Ovule primordia
1999年2月24日 February 24, 1999	初生造孢细胞-次生造孢细胞 Primary sporogenous cell-second sporogenous cell	胚珠原基-造孢细胞 Ovule primordia-sporogenous cell
1999年3月8日 March 8, 1999	小孢子母细胞-四分体 Microspore mother cell-microspore tetrad	造孢细胞-大孢子母细胞 Sporogenous cell-megaspore mother cell
1999年3月12日 March 12, 1999	小孢子母细胞-四分体 Microspore mother cell-microspore tetrad	大孢子母细胞 Megaspore mother cell
1999年3月18日 March 18, 1999	四分体-单核小孢子 Microspore tetrad-uninucleate microspore	大孢子母细胞及其减数分裂 Megaspore mother cell and its meiotic division
1999年3月25日 March 25, 1999	四分体-单核小孢子 Microspore tetrad-uninucleate microspore	大孢子母细胞-二核胚囊 Megaspore mother cell-2-nucleated embryo
1999年3月30日 March 30, 1999	单核小孢子-二核小孢子 Uninucleate microspore-binucleate microspore	二核胚囊-四核胚囊 2-nucleated embryo-4 nucleated embryo
1999年4月5日 April 5, 1999	二细胞花粉粒 2-celled pollen grains	四核胚囊-八核胚囊 4 nucleated embryo-8 nucleated embryo
1999年4月14日 April 14, 1999	二细胞成熟花粉粒 Mature 2-celled pollen grains	八核成熟胚囊 Mature 8-nucleated embryo

植物开花后所产生的成熟果实比所开的花少, 而果实中成熟种子数又比胚珠数少许多, 这既是环境条件对植物进行选择的结果, 也是植物对有限的环境资源适应的结果<sup>[27]</sup>。但是稀有濒危植物在迁地保护区内过低的结籽率会严重影响其有效保护。“从种子到种子”是评价稀有、濒危植物迁地保护是否成功的起码标准。它要求迁地保护的植物生长正常、能开花结果和通过有性繁殖的方式繁衍后代<sup>[28]</sup>, 一种植物在迁地保护区内不能结籽或结籽率太低, 还不能算是有效的迁地保护。对昆明植物园栽培的红花木莲结籽率统计结果为: 1999年9月统计聚合果11个, 心皮总数628个, 胚珠总数3618枚, 发育饱满的种子113颗, 平均每心皮结种子0.179颗, 结籽率(S/O)=3.12%。前面的工作(潘跃芝等, 2001)已经介绍过, 雄配子体即成熟花粉的发育不是影响栽培红花木莲结籽率的原因; 雌配子体发育是否存在生殖障碍, 通过研究, 发现成熟胚囊即雌配子体受精前大约79.1%的卵细胞和87.0%的卵器就已经败育。卵细胞是双受精产生合子的重要前提物质之一, 过高的卵细胞败育率, 是导致栽培红花木莲结籽率低的重要原因。如果把卵器看作功能单位, 雌配子体败育率就更高。

结籽率低是野生植物在栽培条件下常发生的问题, 其原因是多方面的, 就红花木莲而言, 栽培区在开花期(4月份)空气干燥, 可能是部分胚珠败育的原因; 栽培种群小, 植株难以进行异株或异花受粉也是导致结籽率低的原因之一。另外, 栽培区内缺少足够量的有效传粉昆虫, 传粉受精进一步受到影响, 这也可能是造成其结籽率低的原因, 有待今后进一步研究证实。

## 参考文献:

- [1] BERNARDELLO G, ANDERSON G J, PATRICIO L S. Reproductive biology of *Lactoris fernandeziana* (Lactoridaceae) [J]. **Amer. J. Bot.**, 1999, **86**(6): 826– 840.
- [2] SCHEMSKE D W, HUSBAND B C, RUCKELSHAUS M H. Evaluation approaches to the conservation of rare and endangered plants [J]. **Ecology**, 1994, **75**(3): 584– 606.
- [3] 何田华, 饶广远, 尤瑞麟. 濒危植物木根麦冬的胚胎学研究 [J]. 植物分类学报, 1998, **36**(4): 305– 309.
- [4] 刘林德, 王仲礼, 田国伟, 等. 刺五加开花后雌蕊的发育状态与受精作用 [J]. 植物分类学报, 1998, **36**(2): 111– 118.
- [5] 刘林德, 王仲礼, 田国伟, 等. 刺五加大、小孢子发生和雌、雄配子体发育的研究 [J]. 植物分类学报, 1998, **36**(4): 289– 297.
- [6] 刘林德, 王仲礼, 田国伟, 等. 刺五加胚和胚乳发育的研究 [J]. 植物分类学报, 1998, **36**(4): 298– 304.
- [7] 潘开玉, 温洁, 罗毅波, 等. 矮牡丹小孢子和发生雄配子体发育及其与该种濒危的关系 [J]. 植物分类学报, 1999, **37**(3): 244– 252.
- [8] 奇文清, 冯云, 陈朱希昭, 等. 濒危植物南川升麻生殖特性的研究 [J]. 植物学报, 1997, **39**(1): 7– 10.
- [9] 张寿洲, 潘开玉, 等. 矮牡丹小孢子母细胞减数分裂异常现象的观察 [J]. 植物学报, 1997, **39**(5): 397– 404.
- [10] 周世良, 潘开玉, 洪德元. 传粉对杭州石芥苣 (唇形科) 结实的影响 [J]. 云南植物研究, 1998, **20**(4): 445– 452.
- [11] 祖元刚, 唐艳. 高山红景天有性生殖过程及濒危原因的生态学分析 [J]. 植物研究, 1998, **18**(3): 336– 340.
- [12] BOYD R S, SERAFINI L L. Reproductive attrition in the rare chaparral shrub *Fremontodendron decumbens* Lloyd (Sterculiaceae) [J]. **Amer. J. Bot.**, 1992, **79**(11): 1 264– 1 272.
- [13] CLAMPITT C A. Reproductive biological of *Aster curtus* (Asteraceae), a pacific northwest endemic [J]. **Amer. J. Bot.**, 1987, **74**: 941– 946.
- [14] GUITIAN J, GUITIAN P, NAVARRO L. Fruit set, fruit reduction, and fruiting strategy in *Cornus sanguinea* (Cornaceae) [J]. **Amer. J. Bot.**, 1996, **83**(6): 744– 748.
- [15] KUNIN W E. Sex and the single mustard: population density and pollinator behavior effects on seed-set [J]. **Ecology**, 1993, **74**(7): 2 145– 2 160.
- [16] TEPEDINO V J, SIPES S D, GRISWORLD T L. The reproductive biology and effective pollinators of the endangered beardtongue *Penstemon penlandii* (Scrophulariaceae) [J]. **Plant Sys. Evol.**, 1999, **219**: 39– 54.
- [17] WIENS D, NICKRENT D L, DAVERN K I, *et al.* Developmental failure and loss of reproductive capacity in the rare palaeoendemic shrub *Dedeckera eurekaensis* [J]. **Nature**, 1989, **338**: 65– 67.
- [18] 刘玉壶, 罗献瑞. 中国植物志 (第 30 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 98– 100.
- [19] 罗仲春, 陈湘健. 红花木莲 [A]. 见: 傅立国主编. 中国植物红皮书—稀有濒危植物 (第一册) [C]. 北京: 科学出版社, 1992: 434– 436.
- [20] 潘跃芝, 龚洵, 梁汉兴. 濒危植物红花木莲小孢子发生及雄配子体发育的研究 [J]. 云南植物研究, 2001, **23**(1): 85– 90.
- [21] LIAO JING-PING, CHEN ZE-LIAN, CAI XUE-ZHEN. Embryology of *Manglietia glauca* var. *sumatrana* and *Michelia guangxiensis* and the abnormal development [A]. In: Proc Internat Symp Fam Magnoliaceae [C]. Beijing: Science Press, 2000: 177– 187.
- [22] MATSUU I M, IM AICHI R, KATO M. Ovular development and morphology in some Magnoliaceae species [J]. **J. Plant Res.**, 1993, **106**: 297– 304.
- [23] UMEDA A, IM AICHI R, KATO M. Ovular development and morphology of the outer integument of *Magnolia* (Magnoliaceae) [J]. **Amer. J. Bot.**, 1994, **81**(3): 361– 367.
- [24] HAYASHI Y. The comparative embryology of the Magnoliaceae in relation to the systematic consideration of

the family[J]. *Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser. IV (Biol.)*, 1965, 31: 20- 44.

- [ 25] HAYASHI Y. Embryology of *Magnolia salicifolia* (Magnoliaceae)[J]. *Journ. Jap. Bot.*, 1984, 59( 10): 298- 307.
- [ 26] JOHRI B M, AM BEGAOKAR K B, SRIVASTAVA P S. Comparative embryology of angiosperms (Vol. ) [M]. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1992, 237- 238.
- [ 27] CHARLESWORTH D. Why do plants produce so many more ovules than seeds[J]. *Nature*, 1989, 338: 21- 22.
- [ 28] 许再富. 稀有濒危植物迁地保护的原理与方法[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1998: 80- 81.

## 图版说明:

图版 1. 胚珠发育早期, 示造孢细胞和周缘细胞; 2. 周缘细胞正在进行平周和垂周分裂; 3. 示倒生胚珠的厚珠心, 双珠被及正在发育的珠孔塞Ob; 4. 示大孢子母细胞处于减数分裂中期; 5. 示大孢子母细胞减数第一分裂后形成的 2 个子细胞; 6, 7. 同一切片的不同聚焦照片, 6. 示合点端的功能大孢子; 7. 示珠孔端退化的 2 个大孢子; 8. 单核胚囊; 9. 二核胚囊; 10, 11. 四核胚囊。(1.  $\times 450$ ; 2.  $\times 225$ ; 3.  $\times 126$ ; 4~11.  $\times 450$ )

图版 1, 2. 同一胚囊的 2 张连续切片, 八核正在形成之中, 细胞核处于有丝分裂后期; 3, 4. 同一成熟胚囊的两张连续切片。5, 9 是 3, 4 所示胚囊各部分的放大, 5. 3 个反足细胞呈“品”字排列; 6. 次生核; 7. 助细胞; 8. 助细胞; 9. 卵细胞。(1, 2.  $\times 900$ ; 3, 4.  $\times 225$ ; 5~9.  $\times 900$ )

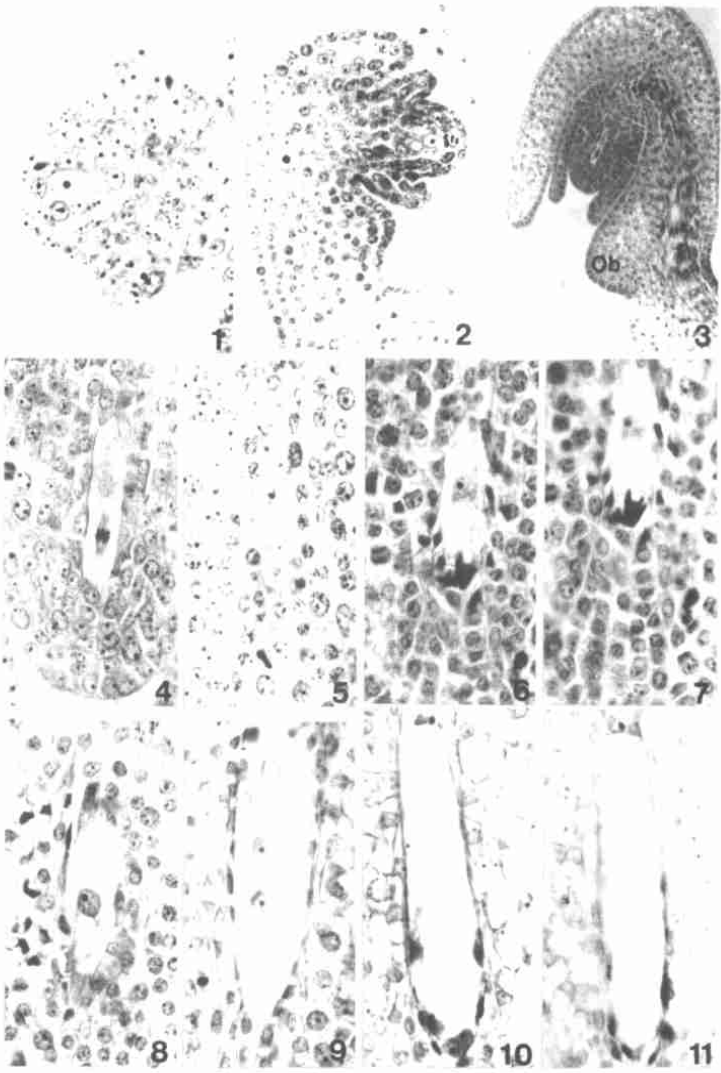
图版 1, 2. 同一胚囊的 2 张连续切片, 示内部的卵器、中央细胞和反足细胞; 3~6 是所示胚囊内各部分的放大, 3. 反足细胞开始退化; 4. 中央细胞; 5. 卵细胞; 6. 退化的两助细胞; 7~9. 同一胚囊的结构, 7. 反足细胞; 8. 中央细胞; 9. 退化的卵器。(1, 2.  $\times 225$ ; 3~9.  $\times 900$ )

## Explanation of plates:

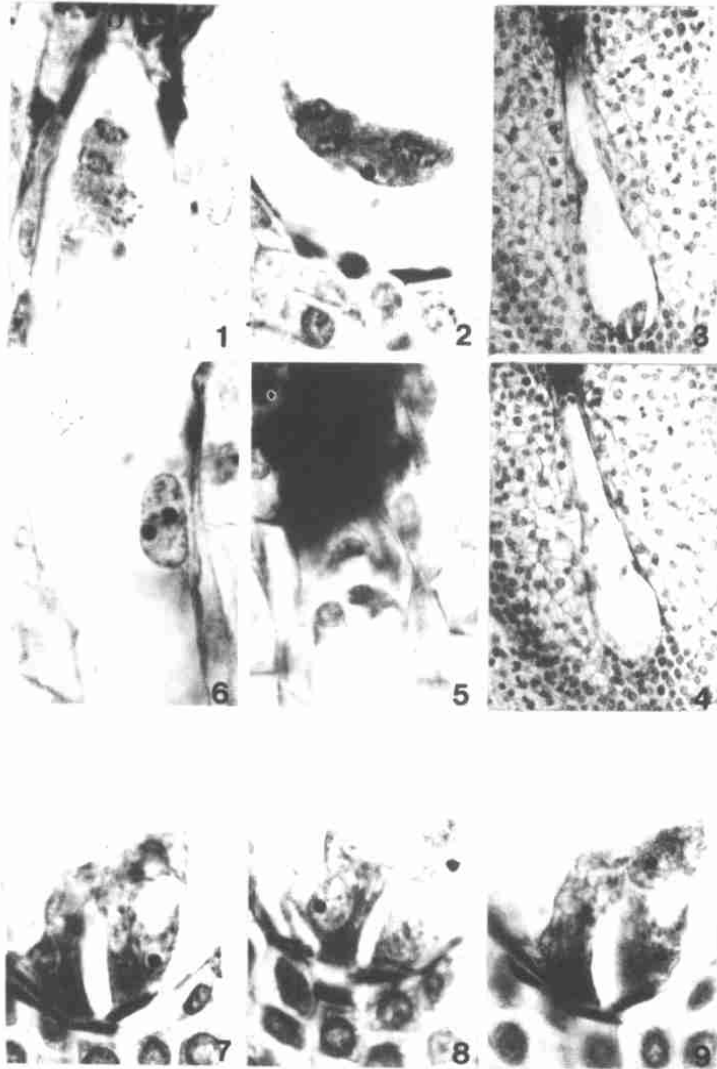
**Plate** 1. Parietal cell and sporogenous cell; 2. Parietal cells in anticlinal division and periclinal division; 3. Anatrochous ovule, bitegmic, crassinucellate and with the obturator; 4. Metaphase I of meiotic division the megaspore mother cell; 5. Two dyad cells Triad, one degenerated at the micropylar end; 6, 7. Two different focus pictures of the same section for the triad, 6. functional megaspore, 7. degenerated megaspores; 8. Nuinucleate embryo sac; 9. Two-nucleate embryo sac; 10, 11. Four-nucleate embryo sac. (1.  $\times 450$ ; 2.  $\times 225$ ; 3.  $\times 126$ ; 4~11.  $\times 450$ )

**Plate** 1, 2. Four-nucleate embryo sac in mitosis; 3, 4. Two pictures of the same eight-nucleate embryo sac. 5~9. The further explanations of the embryo sac mentioned above, 5. Antipodal cells; 6. polar nuclei; 7. synergid; 8. synergid; 9. Egg cell. (1, 2.  $\times 900$ ; 3, 4.  $\times 225$ ; 5~9.  $\times 900$ )

**Plate** 1, 2. Two sections of the same embryo sac, showing the egg apparatus, central cell and antipodal cells; 3~6. The further explanations of the embryo sac mentioned 3. Antipodal cells in degenerating 4. Central cell; 5. Egg cell; 6. Degenerated synergids; 7~9. The same embryo sac, 7. Antipodal cells; 8. Central cell; 9. Degenerated egg apparatus. (1, 2.  $\times 225$ ; 3~9.  $\times 900$ )



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text





See explanation at the end of text