

杜仲胚发育过程的研究*

田兰馨 阎红

(西北大学生物系, 西安 710069)

提 要 西安地区栽培杜仲, 4月中旬传粉, 下旬受精。合子休眠35天左右。6月初形成原胚, 6—8月胚分化发育, 10月种子成熟。合子在休眠期, 其体积增长1—1.5倍, 极性渐显著。合子经两次横分裂, 形成线形排列的四细胞原胚。其后基细胞衍生的细胞参与胚体的形成, 胚的发育属藜型。胚柄单列细胞, 靠珠孔端一个形大, 具吸器作用。胚的后期发育与一般双子叶植物相同。

关键词 杜仲; 胚; 发育形态

杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv) 是我国重要经济树种之一, 具有化工、药用等多种经济用途^[1,2]。目前, 国内外对其研究和利用, 已积累了许多资料, 但研究多偏重在栽培、繁殖, 营养器官形态学及含胶细胞的发生、发育及分布规律等方面^[3-9]。而有关生殖生物学方面报道较少, Davis^[10]及唐锡华^[11]报道了杜仲雌雄配子体的发育; 张芝玉等^[12]根据杜仲的解剖和胚胎学特征, 探讨了系统分类关系。关于杜仲胚的发育尚缺乏系统研究。特此本文报道了杜仲胚胎发育的全过程, 并对其发育类型提出新意见。为探讨其系统分类位置和栽培繁育提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 研究材料

1988—1989年4月至8月采自西安植物园栽培杜仲的雌株。4月20日—28日每天采集固定一次, 4月28日—5月26日每3—6日采集固定一次, 5月27日—6月5日每日固定2次, 6月5日—15日每2日固定一次, 6月15日以后每15日采集固定一次。6月10日前所采材料连同部分子房壁固定, 以后的材料只固定种子。

1.2 制片方法

(1) 石蜡切片法 用卡诺氏固定液和纳瓦兴Ⅲ式固定液双重固定。多数材料用爱氏苏木精块染, 常规法包埋。切片厚8微米。脱蜡后用桔红G或苯胺番红-苯胺固绿衬染。少数用于多糖类物质观察的材料, 用高碘酸-锡夫试剂染色, 固绿衬染。中性树胶封片。

(2) 薄切片法 一种用3%戊二醛(pH7.0磷酸缓冲液配制)及1%锇酸双重固

本文于1992年3月14日收到, 同年8月24日收到修改稿。

* 承蒙胡正海教授校正, 特此致谢!

定;另一种固定法与石蜡切片法相同。固定后的材料均用 Spurr 环氧树脂包埋, ICQ-I 型超薄切片机切片, 切片厚 1—3 微米。亚甲兰-天青和碱性品红染色。

2 观察结果

杜仲为雌雄异株植物。雌花无花被, 仅有 1 个两心皮的合生雌蕊。雌蕊单室, 顶部悬生两个倒生胚珠, 4 月 14 日前后雄株花药发育成熟时, 雌蕊子房内的胚珠发育处于大孢子母细胞减数分裂时期(图版 I: 1)。4 月 25 日前后胚囊发育成熟(图版 I: 2, 3)。4 月底到 5 月初所作切片, 配子已经融合(图版 I: 4)。此时 1 个胚珠败育, 另一个继续发育。5 月 28 日前后, 合子进行第一次分裂, 合子休眠 35 天左右。6 月初形成原胚, 6—7 月胚分化发育, 8—10 月胚逐渐发育成熟。

2.1 合子的形态特征

杜仲胚囊发育属单孢子蓼型。成熟胚囊的卵细胞, 其细胞核位于合点端, 核周围细胞质分布多, 珠孔端有 1 个大液泡(图版 I: 2, 3)。4 月底卵细胞受精后, 大液泡解体成一些小液泡, 其细胞核位置仍偏于合点端, 核仁单 1, 但细胞的极化不明显(图版 I: 4)。当初生胚乳核分裂形成 10 多个胚乳细胞时, 合子核周围积聚了淀粉粒, 其长度开始延伸(图版 I: 5)。5 月中旬合子长度已有 56 微米左右, 小液泡重新合并成珠孔端大液泡, 细胞核和细胞质聚集在合点端, 核周围布满淀粉粒。此时合子极化分化显著(图版 I: 6)。

2.2 原胚发育特征

5 月 28 日前后, 合子休眠结束时, 胚珠长约 4.2 毫米, 宽约 0.8 毫米。此时合子的长度达 85 微米左右, 其核的直径略有增加, 核周围布满大颗粒淀粉。珠孔端的大液泡约占合子 2/3 的空间(图版 I: 7)。

合子的第一次分裂在合点端进行, 为不等横分裂, 形成一个小的顶细胞和一个大的基细胞。顶细胞位于合点端, 细胞核周围原生质浓厚, 液泡化不明显, 具有淀粉颗粒。基细胞长筒形, 体积为顶细胞的 8 倍, 细胞核和细胞质聚集在顶细胞附近, 细胞质中也有淀粉颗粒, 珠孔端具有 1 个特大液泡(图版 I: 8)。接着基细胞横向不等分裂, 形成小的 m 细胞和大的 CI 细胞。顶细胞横向等分裂, 形成大小相近的 L、L' 两细胞, 因此由 CI、M、L'、L 组成的四细胞原胚呈线形排列(图版 I: 9—11)。随后 CI 进行横向不等分裂, L' 及 M 先后进行纵向或斜向分裂, 当形成 8—9 细胞原胚时, L 细胞进行纵向分裂(图版 I: 12—16)。接着 L、L'、M 相继纵分裂, CI 衍生的细胞多数只进行横分裂, 个别细胞有纵分裂。当整个胚达到 10—14 层细胞时, 合点端约有 5—6 层细胞出现相交成直角的纵壁(图版 II: 17, 18)。以后它们进行切向面分裂, 形成内外两层细胞, 从而原胚顶部略膨大, 组成短棒状胚体, 其下 7—9 单列细胞组成胚柄。在以上发育过程中, 随着原胚细胞数目的增多, 细胞内所含淀粉粒数目减少, 细胞体积逐渐变小。整个原胚长度缓慢增加, 由分裂前不到 90 微米, 增加到 160 微米, 而宽度始终为 25 微米左右(图版 II: 19, 20)。

以后胚体外层细胞只进行垂周向分裂, 内部细胞各向分裂, 致使其宽度渐加大(图版 II: 21)。胚体细胞数目迅速增多, 变成球形, 进入到球形胚阶段。此时胚体每个细胞大小相似, 核质比小, 原生质浓厚, 液泡化不明显, 细胞中所含淀粉粒已全部被利

用, PAS反应无红色颗粒。胚柄细胞已达10多个, 总长约187—312微米, 一般为单列。其细胞的体积, 珠孔端大, 渐向合点端减小。核质比大, 液泡化明显, 紧靠珠孔端的一个胚柄细胞, 初期很大呈长筒状, 具有1个大液泡, 后随胚柄细胞数目的增多, 体积差别减小, 但始终比其他细胞大, 具有吸器作用(图版Ⅱ: 22)。

3 胚分化发育阶段

球形胚以后, 胚周围的胚乳细胞渐解体供给胚发育时的养料。胚体细胞分裂频率发生变化, 顶端两侧的细胞分裂频率较中央快, 从而由隆起变成平坦, 继而中部凹陷, 两侧突起形成子叶原基, 下部渐成锥形的部分为胚根原基, 两者间的胚轴不明显, 这时进入到心形胚时期(图版Ⅱ: 23)。随后, 由于子叶原基不断向合点端延伸, 子叶间形成胚芽原基。胚体内部细胞已有分化, 中间部分的细胞形成规则的纵向列, 为胚轴—根轴原形成层束的原始区, 其周围形成基本分生组织, 最外层成为表皮原。胚体下端分化出胚根和根冠的发生区。与此同时胚柄近胚体的2—3层细胞有纵分裂, 下部仍为单列, 紧接珠孔端具吸器功能的大细胞逐渐变得不甚明显。

心形胚晚期, 子叶长约280微米, 最宽处约有10层细胞, 中央原形成层束已开始分化; 子叶间顶端分生组织明显; 胚轴—根轴伸长, 初生分生组织分化迅速; 胚根顶端分生组织及根冠分化明显, 胚进入鱼雷形阶段(图版Ⅱ: 24)。子叶长度增至325微米左右时, 子叶中原形成层束与胚轴原形成层束相连接, 茎端生长锥呈平顶形, 胚根顶端根冠细胞层数增多, 细胞内出现淀粉粒。此时胚柄依然可见, 细胞内存在多糖类物质。

鱼雷形胚形成10天以后, 进入胚成熟发育阶段(图版Ⅱ: 25)。在此阶段, 子叶、下胚轴—根轴生长发育迅速。子叶在长度增加的同时, 宽度加大, 渐成扁平叶状, 内部分化出原形成层束的分支, 胚轴细胞中出现淀粉粒, 胚根长度增加, 整个胚内部细胞分化更为明显。

成熟种子呈长棒状, 长约1.4厘米, 宽约0.3厘米, 两端纯圆, 1侧有棱线^[13]。种皮薄, 仅为几层细胞的残余。胚直生于胚乳细胞中, 两片子叶薄片状, 略长于胚轴—根轴, 横断面由10—13层细胞组成。子叶、胚轴、胚根都处在初生分生组织阶段, 有些部分的原形成层束中已分化出最早的输导分子, 茎端生长点呈圆丘形隆起, 胚根发育良好。此时胚柄已不明显。随着胚的生长发育, 其周围胚乳细胞渐解体, 最后仅种皮下留有10层左右的胚乳细胞。胚乳及胚的细胞内积累了丰富的营养物质。胚内未发现含有胶细胞(图版Ⅱ: 26—28)。

4 讨论

4.1 杜仲的卵细胞受精后, 细胞核结构清晰, 核仁单一, 休眠35天左右才进行第一次分裂。因此其受精作用按两种基本类型划分, 应属于有丝分裂前型。这与胡适宜等(1979)所述“被子植物配子融合在形态上虽有差异, 但无例外地合子分裂是在配子核融合后, 由一个共同的纺锤体完成。”的论断相符合^[14]。

4.2 杜仲的合子从细胞质和细胞器的分布以及液泡等情况来分析, 最初其体积略有缩小, 极性不明显。在休眠期间由原长30微米, 增至80多微米, 随着长度的增加, 核、细胞质、细胞器集中在合点端, 珠孔端形成一个筒状大液泡, 因而加强了极性的分化。这种体积显著增长, 极性逐渐加强的特性, 比已报道的其他被子植物更为显著^[15, 16]。

4.3 杜仲的合子进行两次横向分裂,形成L、L'、M、CI直线排列的四细胞原胚,这一结果与张芝玉等^[12]的观察相同。而其后的发育,我们观察由顶细胞衍生的细胞分化成子叶、胚芽和胚轴中上部,基细胞来源的胚体细胞则分化成胚轴中下部及胚根和根冠。根据 Johansen 等人对胚发育类型的划分原则^[16],杜仲原胚由基细胞来源的细胞参与了胚体的形成,其胚的发育应属藜型,与他们的观察认为是茄型的结果不同。

4.4 杜仲胚发育过程与藜属 *Chenopodium bonus-henricus*^[17]及甜菜 (*Beta vulgaris*)^[18]胚的发育基本类似^[16]。但是杜仲的四细胞原胚都呈线形排列;M层CI顶部少数细胞参与胚体形成;L、L'、M层细胞的分裂初期无严格的顺序性,直到合点端5—6层细胞都出现了相交成直角的纵壁后,才进行切向面分裂;合子长,第一次分裂后,顶细胞和基细胞差别大;四细胞原胚中CI细胞特别大;胚柄细胞数目多,珠孔端1个胚柄细胞呈泡状具吸器作用,后期多数胚柄细胞仍为单列。这些特征又与以上两种不同。

参 考 文 献

- 1 罗士莘. 杜仲的经济价值. 植物生理学通讯, 1956, 2: 25—26
- 2 胡笃敬. 杜仲是我国特产的橡胶植物. 生物学通报, 1957, 2: 6—9
- 3 胡笃敬等. 杜仲种子发芽和幼苗生长生理研究初报. 湖南农学院学报, 1956(1): 23—29
- 4 田兰馨. 胡正海. 杜仲茎组织分化的研究. 西北植物研究, 1981, 1: 65—73
- 5 田兰馨等. 杜仲根组织分化的观察与分析. 浙江林学院学报, 1989, 6(1): 57—64
- 6 田兰馨等. 杜仲含胶细胞发生和发育的研究. 植物学报, 1990, 32(1): 1—6
- 7 田兰馨. 杜仲小孢子母细胞的减数分裂及其异常现象. 西北植物学报, 1988, 8(5): 11—17
- 8 Croquist A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York: Columbia Univ. Press, 1981. 182—184
- 9 Eckardt T. Zur Systematischen Stellung von *Eucommia ulmoides*. Ber Dtsch Bot Ges, 1957, 69(10): 487—498
- 10 Davis G L. Systematic embryology of the angiosperm. New York: John Wiley & Son, 1966
- 11 唐锡华. 杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv) 孢子囊与配子体的发育形态. 植物学报, 1982, 10(11): 29—34
- 12 张芝玉等. 杜仲科的解剖学和胚胎学及其系统关系. 植物分类学报, 1990, 28(6): 430—441
- 13 胡正海等. 中国药用植物种子的形态鉴别. 西安: 西北大学出版社, 1988. 83
- 14 胡适宜. 朱熹. 高等植物受精作用中雄性核和雌性核的融合. 植物学报, 1979, 21: 1—10
- 15 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 北京人民教育出版社, 1983. 178—185
- 16 Maheshwari P. 被子植物胚胎学引论. 陈机译. 北京: 科学出版社, 1966. 269—312
- 17 Souèges E C R. Développement de l'embryon chez le *Chenopodium bonus-henricus* L. Bul Soc Bot, de France. 1920, 67: 233—257
- 18 Artschwager E, Starrett R C. The time factor in fertilization and embryo development in the sugar beet. Jour Agr Res, 1933, 47: 823—843

THE STUDY ON DEVELOPING PROCESS OF EMBRYO IN EUCOMMIA ULMOIDES OLIV

Tian Lanxin, Yan Hong

(Department of Biology, North-Western University, Xi'an 710069)

Abstract *Eucommia ulmoides* Oliv cultivated at Xi'an pollinates in the middle of April, and fertilizes in the end of April. The zygote is dormancy about 35 days long, and then divides. Proembryo is formed in the beginning of June, its differentiation development is in June till July, and maturation it about August till October.

The volume of zygote increased by 1—1.5 times in the dormancy stage, the polarity became obvious. After twice transverse division, the zygote formed L, L', M, CI proembryo in a linear arrangement. Then L, L', M divided in no strict rule. When the whole embryonic cell reached 8—10 rows, the division of the cell from L, L' proceeded in tangential surface, the division of 1—2 layers upon the cells from M and CI proceeded in vertical. Since the end of chalaza had 5 rows of cell, all of them had inner and outer layers, formed embryonic body with short bar shape. The end of micropyle had cells of 7—9 single row formed suspensor. When the embryo was differentiation and development, the derivative of terminal cell formed in cotyledon, plumule, and the middle and upper part of embryonal axis. The embryonal cell source of the basal cell formed in the middle and lower part of embryonal axis, and radicle, root cap. The development of embryo of *Eucommia ulmoides* Oliv belongs to chenopodiad type.

Key words *Eucommia ulmoides* Oliv; Embryo; Development

图版说明

图1—25为胚珠或种子的纵向切面, 均按珠孔端向下的方向排列。

图版 I

1. 倒生胚珠, 箭头示珠心中大孢子母细胞减数分裂前期 I、单珠被 (INT) ($\times 264$); 2. 示胚囊中 2 个助细胞 (SY) 及中央细胞中的极核 ($\uparrow$) ($\times 240$); 3. 示胚囊中卵细胞 (EC)、反足细胞 (ANC) 和极核 ($\uparrow$) ($\times 240$); 4. 示胚囊中合子 (ZY) 及胚乳细胞 (EN) ($\times 240$); 5. 胚乳细胞增多, 合子核周围有淀粉粒 ($\times 528$); 6. 5 月中旬合子及胚乳 ($\times 240$); 7. 分裂前的合子 ($\times 528$); 8. 二细胞原胚。顶细胞 (CA), 基细胞 (CB) ($\times 528$); 9. 三细胞原胚, 基细胞横分裂形成 CI、M; 顶细胞横分裂形成 L'、L ($\times 528$); 10. 三细胞原胚, 顶细胞横分裂形成 L'、L ($\times 528$); 11. 四细胞原胚, 基细胞横分裂形成 CI、M; 顶细胞横分裂形成 L'、L ($\times 528$); 12. CI 正在进行横分裂 ($\times 528$); 13. L'、M 进行斜向分裂 ($\times 528$); 14. 六细胞原胚 ($\times 528$); 15, 16. L 细胞纵分裂 ($\times 528$)

图版 II

17. 合点端 2 层细胞进行相交面的纵分裂 ($\times 528$); 18. 合点端 5 层细胞形成相交成直角的纵壁 ($\times 300$); 19, 20. 合点端约 5 层细胞进行切向面分裂, 形成棒状胚体及单列细胞的胚柄 (SP) ($\times 300$); 21. 胚体外层细胞只进行切向面分裂, 其内细胞各向面分裂 ($\times 300$); 22. 球形胚 ($\times 300$); 23. 心形胚 ($\times 100$); 24. 鱼雷形胚 ($\times 100$); 15. 胚分化发育阶段 ($\times 50$); 26. 成熟种子通过子叶横切面, 示胚乳 (EN) 及子叶 (CO) ($\times 100$); 27. 成熟胚纵切, 示胚芽和下胚轴 (HP) ($\times 100$); 28. 成熟胚纵切, 示胚根 (ER) ($\times 100$)

Explanation of plates

In the plates 1—25, all are longitudinal section of ovule and seed, and arranged according to the terminal of micropyle directed downward.

Plate I

1. An anatropous ovule, arrow shows prophase of meiosis I of megasporocyte in nucellus ($\times 264$); 2. Showing two synergids and polar nucleus ($\uparrow$) in the central cell, in the embryo sac ($\times 240$); 3. Showing egg cell (EC), antipodal cell (ANC) and polar nucleus ($\uparrow$) in the embryo sac ($\times 240$); 4. Showing zygote (ZY) and endospermic cell (EN) in the embryo sac ($\times 240$); 5. Showing endospermic cell increased, some starch grains around the zygotic nucleus ($\times 528$); 6. Showing zygote and endosperm in middle of May ($\times 240$); 7. Showing zygote before division ($\times 528$); 8. Two-celled proembryo, showing acrocell (A) and basal cell (CB) ($\times 528$); 9. Three-celled proembryo, showing telophase of transversal division of basal cell ($\times 528$); 10. Three-celled proembryo, showing prophase of transversal division of acrocell ($\times 528$); 11. Four-celled proembryo, showing transversal division of basal cell, formed CI, M; transversal division of acrocell, formed L', L ($\times 528$); 12. Showing CI progressing transversal division ($\times 528$); 13. Showing L', M progressing oblique division ($\times 528$); 14. Six-celled proembryo ($\times 528$); 15, 16. Showing longitudinal division of L-cell ($\times 528$)

Plate II

17. Showing longitudinal division of intersecting surface of two layers cell at chalazal terminal ($\times 528$); 18. Showing five layers cell at chalazal terminal intersected each other at right angles forming longitudinal wall ($\times 300$); 19, 20. Showing about five layers cell at chalazal terminal progressing tangential division and formed a bar-shaped embryoid and embryo stalk (SP) of single row cell ($\times 300$); 21. Showing outer layer of embryoid tangentially dividing only, and inner cell dividing in all directions ($\times 300$); 22. Showing globular embryo ($\times 300$); 23. Showing heart-shaped embryo ($\times 100$); 24. Showing torpedo embryo ($\times 100$); 25. Showing differential development stage of embryo ($\times 50$); 26. Transversal section of seed leaf of ripening seed, showing endosperm (EN) and seed leaf (CO) ($\times 100$); 27. Longitudinal section of ripening embryo, showing embryonic bud and lower embryonal axis (HP) ($\times 100$); 28. Longitudinal section of ripening embryo, showing embryonic root (ER) ($\times 100$)



