

卡特兰雌配子的发育

郑宝强, 王雁*, 郭欣

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘要:采用石蜡切片法观察了卡特兰雌配子的发育过程。结果表明:卡特兰在授粉前,胎座和胚珠并没有开始发育;在成功授粉后,胚珠原基开始发育;卡特兰的胚珠为倒生型,具薄珠心和2层珠被,成熟胚囊为8核;从授粉到胚囊成熟需要112 d左右;外珠被的过早发育可能是造成胚败育的原因之一。

关键词:卡特兰;雌配子;发育

中图分类号:S682.31

文献标识码:A

Female Gametophyte Development in *Cattleya*

ZHENG Bao-qiang, WANG Yan, GUO Xin

(Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: The female gametophyte development in *Cattleya* was studied by the method of paraffin cut. The results showed that the placental growth and ovule development did not initiate until pollination. After successful pollination, the ovule primordium begins to grow. The ovule is anatropous with 2 integuments and one-layered nucellus around the megaspore mother cell. The mature embryo sac consists of 8 nuclei. The interval between pollination and the mature embryo sac is about 112 days. The advanced development of out integument might be a reason causing the abortion of embryo.

Key words: *Cattleya*; female gametophyte; development

卡特兰属(*Cattleya*)为兰科(Orchidaceae)附生兰类,原产于美洲热带和亚热带,有“热带兰之王”之称^[1]。目前对卡特兰的研究主要集中在系统进化和分类^[2-3]、栽培生理^[4-6]、组织培养^[7-8]等方面,有关卡特兰生殖生物学方面的研究较少。在卡特兰杂交育种中经常出现败育现象,一种情况是授粉2周后子房停止发育,果荚变黄脱落,另一种情况是种子发育过程中,胚逐渐消失,最后只剩下一层种皮。本文对卡特兰的大孢子的发生和雌配子体的发育进行了研究,以为卡特兰生殖生物学提供基本资料,为研究卡特兰杂交育种败育现象奠定基础。

1 材料与方法

供试品种为 *Blc. Sung Ya Green* ‘Green World’, 人工自花授粉能够结实。自2009年11月到2010年6月,对盛花期的卡特兰进行人工自花授粉后,每隔1周采集1次果荚,每次采集5个。材料保存于FAA固定液中,按常规石蜡制片,切片厚度8~10 μm,分别用爱氏苏木精和铁钒苏木精染色,加拿大树胶封片,Olympus CX-31型显微镜观察、拍照。

2 结果与分析

卡特兰的子房由三心皮组成,胎座为侧膜胎座。

收稿日期:2014-08-29

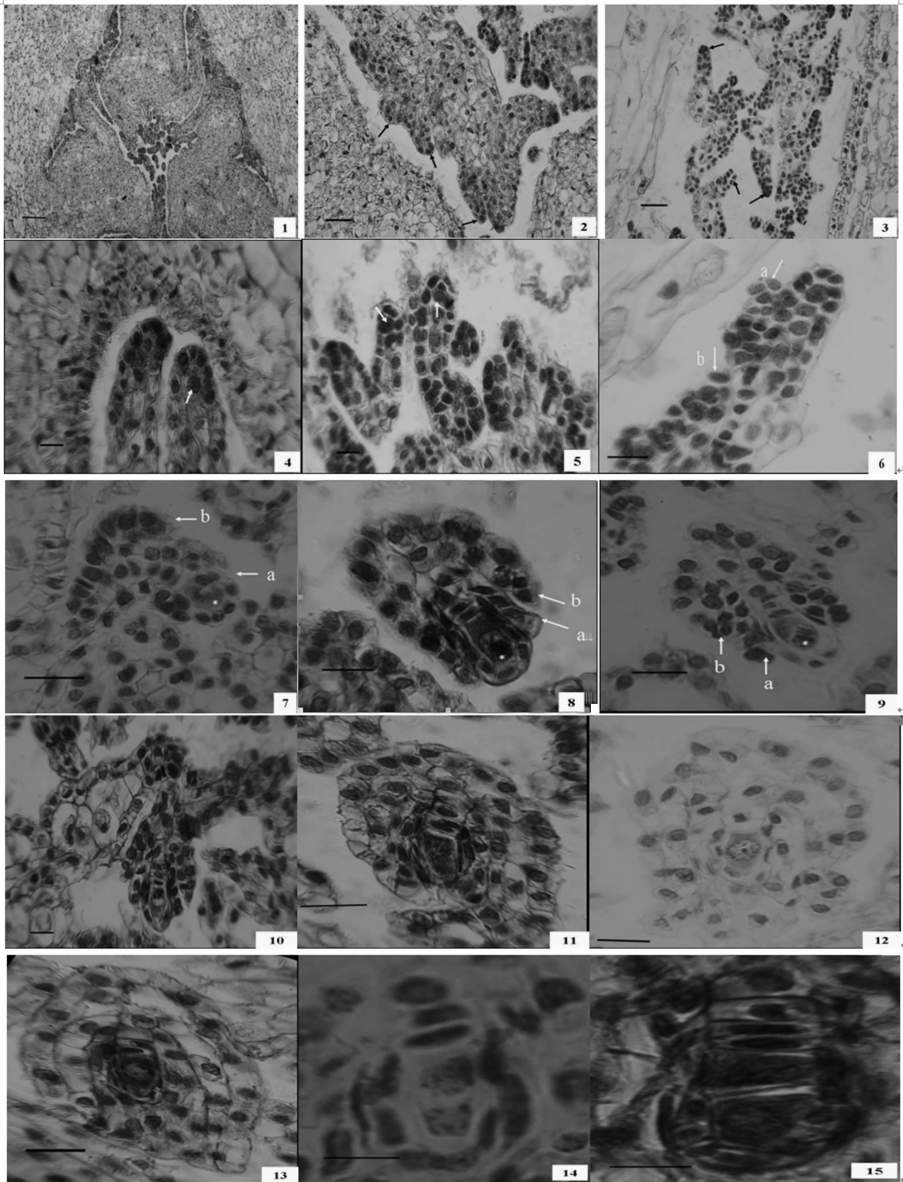
项目基金:中央级公益性科研院所专项(CAFYBB2012014);北京市园林绿化局计划项目(Y1HH200900304)

作者简介:郑宝强(1981—),男,山东淄博人,主要从事园林植物与观赏园艺研究。

* 通讯作者。

在开花期,卡特兰的胎座由排列紧密的组织构成,细胞小,细胞质稠密(图 1-1)。当授粉成功后,子房开始膨大发育,胎座组织内的细胞开始进行平周和垂周分裂,形成许多指状突起并不断伸长为分枝,各小

分枝的末端由一层表皮细胞包围着几个细胞组成(图 1-2,3)。子房胎座表皮下的细胞局部分裂产生胚珠原基,原基前端发育成珠心,基部发育成珠柄。



1 卡特兰的子房由三心皮组成,胎座为侧膜胎座,bar = 200 μm ; 2,3 胎座形成许多指状突起; 4,5 传粉后 21 d 左右,指状突起末端表皮下一个体积增大的细胞分化为孢原细胞(箭头),bar = 50 μm ; 6 内外珠被开始分化。a 内珠被,b 外珠被,bar = 20 μm ; 7 合点端的细胞不平衡分裂使胚囊向倒立方向生长,bar = 20 μm ; 8,9 内外珠被生长迅速,bar = 20 μm ; 10,11 形成倒生胚珠,bar = 20 μm ; 12,13 在第 1 次减数分裂之前,由于细胞伸长作用,大孢子母细胞体积显著增大,bar = 20 μm ; 14,15 第 1 次减数分裂形成了二分体,2 个细胞大小基本一致,内珠被已经完全包围珠心,bar = 10 μm

图 1 大孢子的发生过程(1)

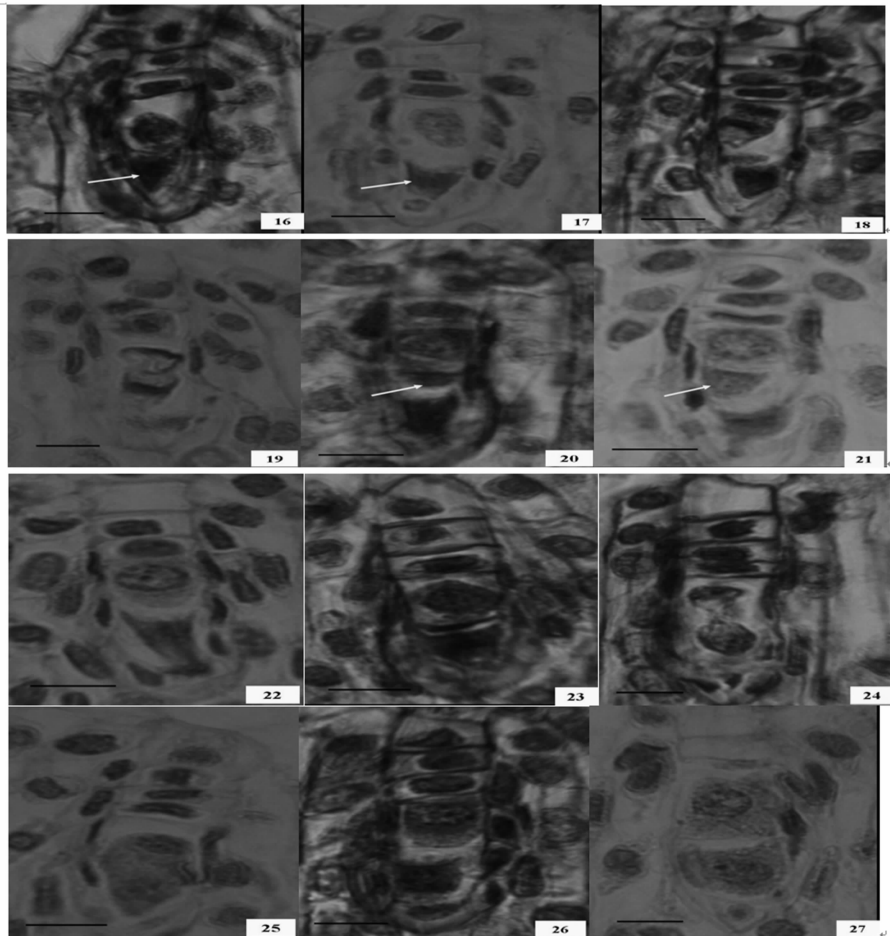
2.1 大孢子的发生

授粉后 21 d 左右,胚珠原基开始发育,首先,胎座指状分枝末端的 1 个细胞体积增大,直接分化为孢原细胞(图 1-4,5),这个细胞体积较大、细胞质浓

厚、细胞核较大,明显区别于其他珠心细胞,孢原细胞下部的 2~4 个细胞保持较长时间不再分裂。在孢原细胞时期,珠心基部开始出现珠被原基,授粉后 35 d 左右开始分化出内珠被,最初在孢原细胞下部

的表皮细胞突起,然后向上生长形成内珠被,此时在珠柄对侧的内珠被基部的表皮细胞突起,开始分化为外珠被(图 1-6)。珠柄在孢原细胞基部以下约 4~5 个细胞的一侧发育快,一侧发育慢,在孢原时期即开始弯曲(图 1-7),同时内外珠被生长迅速(图 1-8、9),随着胚珠的发育,弯曲角度越来越大,直至倒转,形成倒生胚珠(图 1-10、11)。胚珠发育的同时珠心中间的胚囊也在发育。随着内外珠被向上生长,内珠被包住珠心,胚原细胞的体积迅速增大,细胞拉长,细胞质变得很浓,最后孢原细胞直接分化为大孢子母细胞(图 1-12、13)。此时,胚囊周围的珠被内表皮细胞已经基本包围胚囊,开始径向伸长。包围胚囊的珠被端部细胞增生形成狭长的珠孔,珠孔与珠柄平行,珠被与珠心合并处为合点。从授粉到大孢子母细胞的成熟需要 70 d。

在第 1 次减数分裂之前,由于细胞伸长作用,大孢子母细胞体积显著增大。授粉后 77 d 左右,大孢子母细胞开始进行减数分裂。大孢子母细胞第 1 次减数分裂没有明显的极性,分裂完成时形成 2 个大小相近的二分体(图 1-14、15)。随后珠孔端的 1 个逐渐解体,合点端的 1 个体积增大(图 2-16、17)。此时,外珠被生长迅速,长度逐渐超过内珠被。随后进入第 2 次减数分裂(图 2-18、19),形成 2 个大小不一的大孢子细胞,合点端的为功能大孢子细胞,体积大,珠孔端的为无功能的大孢子细胞,将会逐渐解体 and 退化(图 2-20~23)。随着无功能的大孢子细胞逐渐解体,合点端的功能大孢子细胞进行了第 1 次有丝分裂,形成 2 个单倍体的大孢子核,2 核分别移向两极,核之间不形成细胞壁,只是以 1 个大液泡相隔(图 2-24~27)。



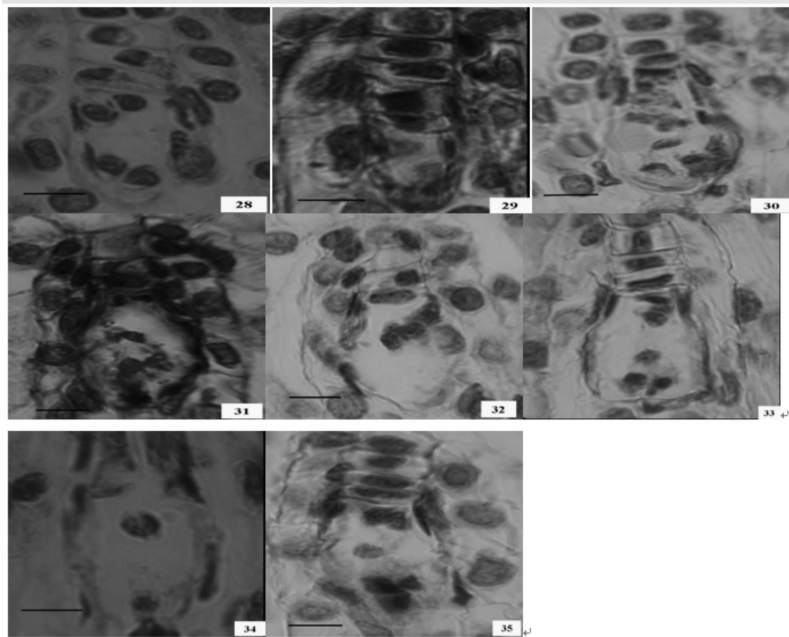
16、17. 珠孔端的二分体逐渐退化(箭头),合点端的二分体在第 2 次减数分裂前体积增大,bar = 10 μm ; 18、19 合点端细胞减数分裂后期,bar = 10 μm ; 20、21 第 2 次减数分裂形成了 2 个大小不一的大孢子细胞,小的将会逐渐退化(箭头),bar = 10 μm ; 22、23 合点端的功能大孢子细胞和无功能的细胞,无功能的细胞将逐渐解体和退化,bar = 10 μm ; 24、25 第 1 次有丝分裂形成 2 个细胞核,在细胞中央出现了 1 个不断扩大的液泡,bar = 10 μm ; 26、27 胚囊体积增大,中间液泡体积也增大,bar = 10 μm

图 2 大孢子的发生过程(2)

2.2 胚囊的发育及雌配子体的形成

授粉后 98 d, 位于胚囊 2 端的大孢子核, 各进行 1 次有丝分裂, 形成四核胚囊(图 3-28、29)。四核分别再进行 1 次有丝分裂, 形成八核胚囊(图 3-

30、31), 其中珠孔端的 3 核形成卵器, 合点端的 3 核形成反足细胞, 珠孔与合点各有一核移向胚囊中央, 构成中央细胞的极核(图 3-32)。



28、29 第 2 次有丝分裂形成了四核细胞, 有 1 个核总是在珠孔端, bar = 10 μm ; 30、31 八核胚囊, bar = 10 μm ; 32 示 2 个极核, bar = 10 μm ; 33 示卵器, bar = 20 μm ; 34 2 个极核正在融合, bar = 10 μm ; 35 八核七细胞, bar = 10 μm

图 3 胚囊的发育及雌配子体的形成

初形成的卵细胞和助细胞体积小, 卵细胞与助细胞在大小和形状上是相似的, 2 个助细胞和卵细胞呈‘品’字形排列于珠孔端(图 3-33)。随着内部液泡的扩大和细胞质的积累, 卵细胞与助细胞向合点端扩展, 随后 2 个极核融合而成的次生核(图 3-34), 形成 8 核 7 细胞胚囊(图 3-35), 至此成熟雌配子体发育完成, 卡特兰在传粉后 112 d 左右雌配子发育成熟。

2.3 胚败育

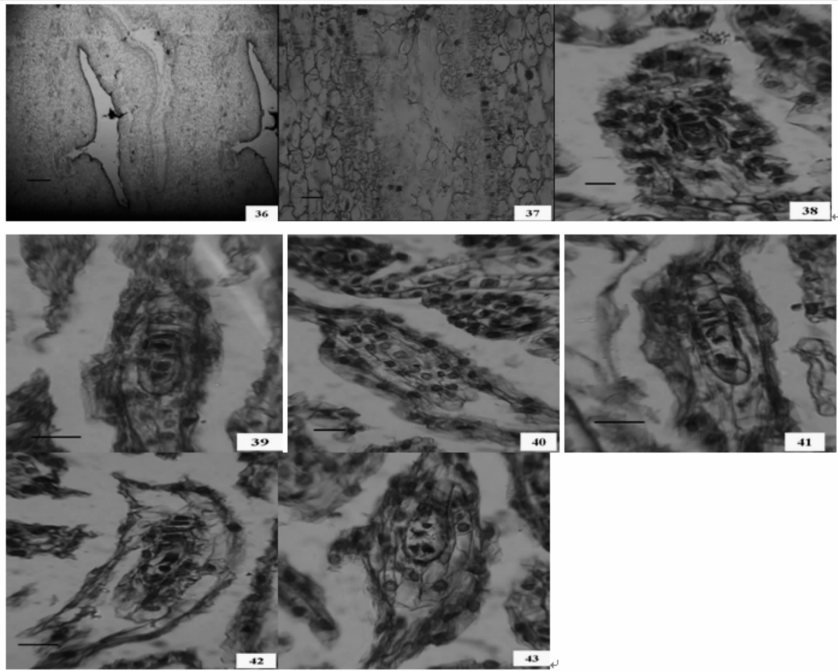
卡特兰在授粉后子房开始膨大发育, 在 2 周后有一个败育高峰, 子房逐渐变黄脱落。经解剖发现, 原本胎座组织内的细胞不能进行分裂, 不能形成胎座(图 4-36)。有的子房内形成丝状的海绵组织, 替代了应该生成的指状突起(图 4-37), 由此可见, 子房的暂时膨大是由细胞伸长作用所致。

外珠被在卵细胞受精后逐渐失水发育成种皮, 但在本研究中发现, 在大孢子母细胞、2 核胚囊、4 核胚囊、8 核胚囊阶段, 有的外珠被已经开始失水(图 4-38 ~ 43)。外珠被过早的发育成种皮, 可能导致后期的精细胞无法进入胚囊, 以致卵细胞不能完成

受精, 随着种皮内的细胞完全退化消失, 最终导致空种皮现象发生。

3 结论与讨论

有研究表明, 双色兰 (*Cymbidium bicolor* Lindl.)^[9] 雌配子发育过程中生成一大一小的二分体; 墨兰 (*C. sinense* Willd.)^[10] 和五唇兰 (*Doritis pulcherrima* Lindl.)^[11] 在形成二分体后, 珠孔端的 1 个退化, 合点端的 1 个直接分化成 2 个功能大孢子核; 而本研究表明, 卡特兰分裂为 2 个均等的二分体, 生成二分体后需再经 1 次减数分裂后才形成 2 个功能大孢子核。以上研究结果的差异, 有可能是以前研究者将大孢子母细胞连续 2 次减数分裂相混淆或者观察不清所致。从本研究结果可见, 卡特兰雌配子发育有以下特点: 在授粉前, 胚珠还没有发育, 在成功授粉后, 胚珠原基开始发育, 胚珠为倒生型, 薄珠心, 具双层珠被, 经 2 次减数分裂和 3 次有丝分裂后形成, 形成 8 核 7 细胞胚囊。卡特兰雌配子发育的特点与树兰 (*Epidendrum ibaguense* Kunth)^[12] 相同, 但与杓兰 (*Cypripedium passerinum* Richards)^[13] 存在



36 原本胎座组织内的细胞不能进行分裂,不能形成胎座,bar = 200 μm ;37 有的子房内形成丝状的海绵组织,替代了应该生成的指状突起,bar = 20 μm ;38 ~ 43 外珠被在胚囊发育的各个时期生长过快,bar = 20 μm

图4 卡特兰胚败育过程

差异,构兰在授粉前胚珠已经开始发育,授粉时已经具有发育好的孢原细胞或大孢子母细胞,而且内珠被在2核胚囊期才包围胚囊。卡特兰和树兰在授粉前胚珠并没有开始发育,在大孢子母细胞时期内珠被已基本包围胚囊。由此分析,卡特兰与树兰亲缘关系相近,与构兰关系较远,因而在特征上有了显著差异;同时表明卡特兰和树兰是高度进化的兰科植物,在长期的自然选择中进化出最节省能量的方式—只有授粉成功胚珠才开始发育,这一点要比构兰先进,说明卡特兰和树兰的进化程度比构兰高。

关于空种皮现象的发生,本研究认为是由于外珠被的过早发育造成,这可能是造成胚败育的原因之一,是否与卵细胞受精后胚不能正常发育有关,还有待于进一步观察。

参考文献:

- [1] 王雁,陈振皇,郑宝强,等.黄祯宏卡特兰[M].北京:林业出版社,2012;5.
- [2] jin G, Naito T, Matsui S. Randomly amplified polymorphic DNA analysis for establishing phylogenetic relationship among *Cattleya walkeriana* Gardn., *Cattleya nobilior* Rehb. f. and *Cattleya loddigesii* Lindl[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science,2004,73(5): 496 - 502.
- [3] jin G, Naito T, Matsui S. Randomly amplified polymorphic DNA a-

analysis for establishing phylogenetic relationships among *Cattleya* and its allied genera[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2004, 73(6): 583 - 591.

- [4] Saiprasad G V S, Raghuvveer P, Khetrapal S, et al. Effect of various growth regulators on the production of protocorm likebodies in three orchid genera [J]. Indian Journal of Plant Physiology, 2002,7(1):35 - 39.
- [5] 李进才,赵习姐,张秦英,等.遮光对兰花养分含量及生育的影响[J].华北农学报,2006,21(4):51 - 54.
- [6] 金陈斌,范凯峰,侯樱,等.卡特兰盆栽基质筛选初试[J].上海交通大学学报,2005,23(4):430 - 434.
- [7] Adelberg J W, Desamero N V, Hale S A, et al. Long-term nutrient and water utilization during micropropagation of *Cattleya* on a liquid/membrane system[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1997(1):1 - 7.
- [8] 郑宝强,王雁,彭镇华.卡特兰无菌播种与快速繁殖[J].植物生理学通讯, 2010,46(3):259 - 260.
- [9] Swamy B G. Femele gametophyte and embryogeny in *Cymbidium bicolor* Lindl [J]. Proceedings of the Indian Academy of Science, 1942, 15:194 - 201.
- [10] 叶秀彝,郭彦俊.墨兰雌配子体和胚胎发生[J].热带亚热带植物学报,1995,3(1):54 - 58.
- [11] 唐源江,叶秀彝,陈泽濂.五唇兰雌配子体发育和胚胎发生的研究[J].热带亚热带植物学报,1998,6(4):289 - 292.
- [12] Yeung E C, Law S K. Embryology of *Epidendrum ibaguense*. I. Ovule development[J]. CanJBot, 1989,67:2219 - 2226.
- [13] Law S K, Yeung E C. Embryology of *Cypripedium passerinum* (Orchidaceae): Ovule development [J]. Lindleyana, 1993, 8: 139 - 147.