

郁南无核黄皮胚囊异常发育的细胞学观察

刘蕊^{1,2}, 冯莉¹, 李德红²

(1 广东省农业科学院 植物保护研究所, 广东 广州 510640;

2 华南师范大学 生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东 广州 510631)

摘要:利用石蜡切片观察了郁南无核黄皮和有核鸡心黄皮胚囊发育状况。结果表明:郁南无核黄皮胚囊发育存在败育现象,即表现为开花当日有91.9%的胚囊未发育达到受精的成熟状态,花后1~7 d,仍有81.6%的胚囊未发育达到八核期成熟胚囊;而对照材料有核鸡心黄皮在开花当日和花后7 d内发育到八核期成熟胚囊的比率分别为96.7%和100%。郁南无核黄皮胚囊受精前败育是导致其无核的重要原因之一,也是其和有核黄皮混种能稳定保持无核性状的重要原因。

关键词: 郁南无核黄皮; 胚囊; 异常发育; 细胞学观察

中图分类号:Q944.45

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2008)04-0051-04

The Cytological Observation of Embryo Sac Development Abnormality in Yu'nan Seedless Wampee

LIU Rui^{1,2}, FENG Li¹, LI De-hong²

(1 Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agriculture Science, Guangzhou 510640, China;

2 Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Science,
South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The embryo sacs of Yu'nan Seedless Wampee and Jixin Wampee were observed via microscopic examination with paraffin sections. The abortion could be found in all developmental stages of the embryo sacs in Yu'nan Seedless Wampee. 91.9% embryo sacs of Yu'nan Seedless Wampee were immature on the flowering day and 81.6% of them were still immature after flowering one to seven days. Conversely, the normal Jixin Wampee showed 96.7% and 100% mature embryo sacs, respectively. The abortion of the embryo sac before fertilization not only caused the seedless phenomenon of Yu'nan Seedless Wampee, but also keep the seedless results when both seedy species of Wampee plants grown together.

Key words: Yu'nan Seedless Wampee; embryo sac; development abnormality; cytological observation

黄皮 *Clausena lansium* Skeels 是芸香科 Rutaceae 黄皮属 *Clausena* 的常绿果树, 原产我国南方, 为热带亚热带重要水果。无核黄皮是黄皮的稀优变异种, 它克服了普通黄皮籽多、可食率低、不便加工等缺点, 具有很高的商品价值和很好的开发潜力, 特别是郁南无核黄皮, 果大皮薄、肉厚多汁、质优味美, 加之特殊的药用保健价值深受广大消费者的青睐, 因此物

稀价高, 供不应求。郁南无核黄皮经过人工大量嫁接繁殖, 已经成为目前无核黄皮中的主要栽培品种。对于无核黄皮, 研究报道较多的是在生物学特性^[1,2] 和果实营养方面^[3]。关于其无核机理的研究, 较多的是在花粉育性如花粉萌发率、花粉管长度等方面^[4-6], 而对其胚囊发育的观察鲜见报道。本文以郁南无核黄皮为材料, 对其开花前后胚囊的发育情况

收稿日期:2007-12-06

作者简介: 刘蕊(1979—), 女, 博士研究生; 通讯作者: 冯莉(1963—), 女, 副研究员, E-mail:fengl2005@126.com

基金项目: 广东省农业科技攻关项目(2005B20501004)

进行了细胞学观察,探讨其与无核结实间的关系,为郁南无核黄皮品种推广与应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

广东省农业科学院植物保护研究所大丰基地种植的6年生郁南无核黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels cv. Yu'nan, 引种于广东郁南县建城镇; 广东省农业科学院植物保护研究所种植的10年生鸡心黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels cv. Jixin, 对照, 引种于广东省农业科学院果树研究所.

1.2 方法

开花当天的胚囊: 分别在郁南无核黄皮和鸡心黄皮的盛花期, 采集当天开放但尚未授粉的花朵各50朵, 保持子房部分完整, 用卡诺固定液固定24 h后转入FAA中常温保存.

开花后的胚囊: 分别在郁南无核黄皮和鸡心黄皮的盛花期, 用细线标记当天开花的花朵250朵, 在花后1~7 d内, 每天取郁南无核黄皮和鸡心黄皮标

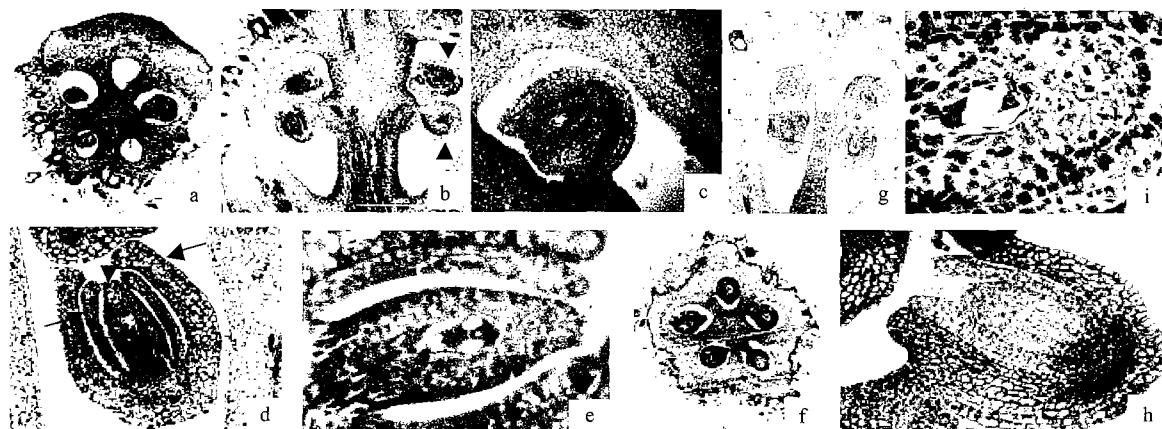
记的花朵各30朵, 保持子房部分无损伤, 用卡诺固定液固定24 h后转入FAA中常温保存.

采用石蜡切片法^[7], 使用OLYMPUS光学显微镜进行观察与摄影.

2 结果与分析

2.1 郁南无核黄皮与鸡心黄皮胚珠发育的细胞学观察比较

郁南无核黄皮与鸡心黄皮胚珠发育状况的细胞学观察结果比较见图1. 鸡心黄皮子房由5个子房室组成(图1a), 每个子房室中有2个胚珠着生于中轴胎座, 呈上下排列(图1b). 胚珠横生, 珠柄粗短(图1c), 具有双层珠被, 珠孔由内珠被组成(图1d), 每个胚珠中只有1个珠心和胚囊(图1e). 郁南无核黄皮胚珠和鸡心黄皮的外部形态相同, 每个子房有5个子房室(图1f), 每个子房室2个横生胚珠(图1g), 具有内外2层珠被, 内珠被组成珠孔(图1h), 每个胚珠只有1个珠心和胚囊(图1i), 珠柄粗而短(图1h).



a,f,g:5个子房室($\times 40$) ; b,e,h:每个子房室有2个胚珠, ▶2个胚珠($\times 100$) ; c:横生胚珠和珠柄($\times 100$) ; d:双珠被和珠孔, →示内、外珠被, ▶示珠孔($\times 400$) ; e:八核胚囊期的珠心($\times 400$) ; h:横生胚珠($\times 400$) ; i:二核胚囊期的珠心($\times 1000$)

a,f: A crosscut of the ovary of Jixin Wampee ($\times 40$); b,g: Two ovules in each locule; ▶ showing two ovules ($\times 100$); c: Hemianatropous ovule of Jixin Wampee and its funiculus ($\times 100$); d: The outer integument, inner integument and micropyle of Jixin Wampee; → showing the outer integument and inner integument, ▶ showing the micropyle ($\times 400$); e: Jixin Wampee's nucellus at the stage of eight-nuclei embryo sac; h: The hemianatropous ovule of Yu'nan Seedless Wampee ($\times 400$); i: Yu'nan Seedless Wampee's nucellus at the stage of two-nuclear embryo sac ($\times 1000$)

图1 郁南无核黄皮(f~i)与鸡心黄皮(a~e)胚珠的观察比较

Fig. 1 The comparison between the ovules of Yu'nan Seedless Wampee (f~i) and Jixin Wampee (a~e)

2.2 郁南无核黄皮与鸡心黄皮胚囊发育的细胞学观察比较

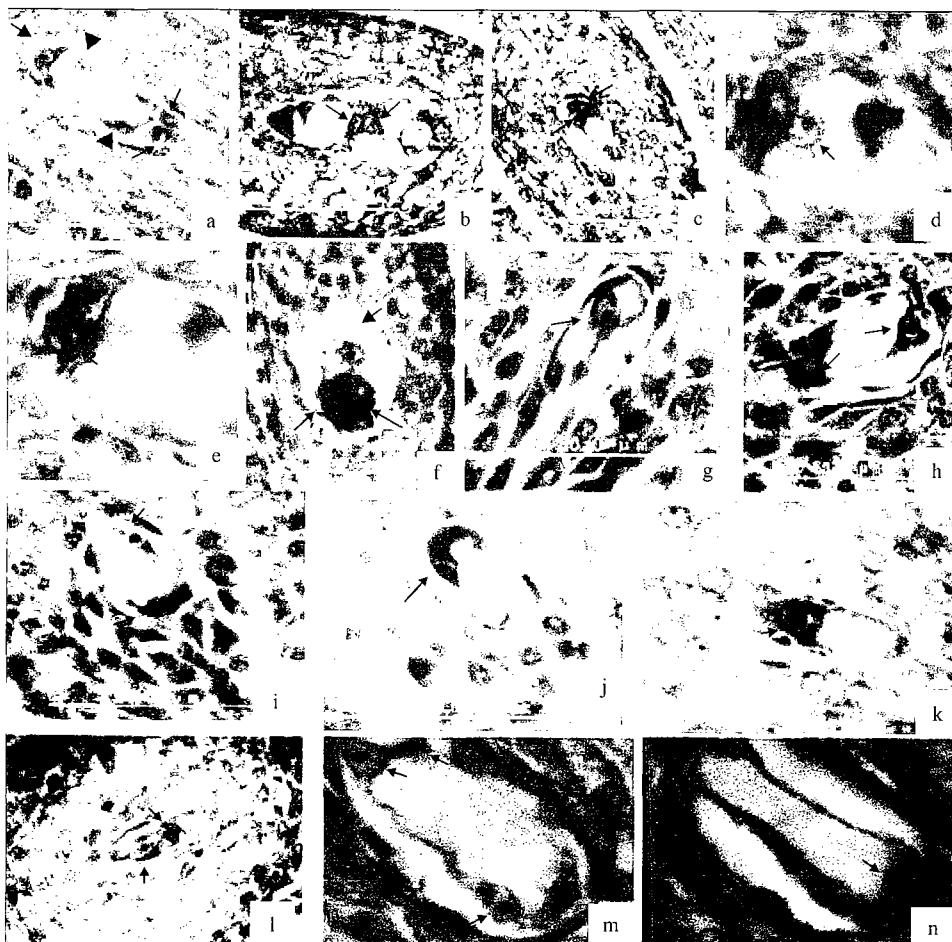
鸡心黄皮的胚囊发育类型属于蓼型. 开花当日, 鸡心黄皮胚囊达到七细胞八核胚囊期(图2a), 发育正常. 卵细胞和助细胞组成卵器, 位于珠孔端(图2c、2e); 2个极核起初分别位于珠孔端和合点端(图2a、2d), 以后慢慢靠近, 位于胚囊中央(图2b), 组成

中央细胞; 反足细胞位于合点端, 共3个(图2a), 胚囊的绝大部分空间被液泡充满, 授粉1 d后就可以见到受精现象(图2f).

郁南无核黄皮与鸡心黄皮胚囊发育的细胞学观察比较结果表明, 郁南无核黄皮胚囊发育异常, 开花当日, 观察大部分胚囊不能发育达到七细胞八核期的成熟胚囊, 发育程度参差不齐, 有的处于二核期

(图 2h),有的处于四核期(图 2i、2j),甚至还有处于单核期(图 2g),只有极少数发育至八核期;而对花后 1~7 d 的胚囊发育状况的观察结果表明:处于单

核期(图 2k)、二核期(图 2l)、四核期(图 2m、2n)的胚囊仍占绝大多数。



a:开花当日的八核胚囊,卵细胞、极核、反足细胞,→示卵细胞,►示极核,→示反足细胞;b:八核胚囊的2个极核,→示极核;c:八核胚囊的2个助细胞,→示助细胞;d:八核胚囊期膨大的极核,→示极核;e:八核胚囊的卵细胞;f:花后1 d 的胚囊,←示受精卵细胞,→示2个退化的助细胞;g:开花当日滞留在单核期的胚囊,→示单核;h:开花当日滞留在二核期的胚囊,→示二核;i,j:开花当日滞留在四核期的胚囊,j为i的连续切片,→示三核;k:开花后5 d 仍滞留在单核期的胚囊,→示单核;l示开花后7 d 仍滞留在二核期的胚囊,→示二核;m,n:开花后7 d 仍滞留在四核期的胚囊,n为m的连续切片,→示四核

a: eight-nuclei embryo sac on the abloom day; → showing the egg cell; ► showing the polar nucleus and → showing the antipodal cells; b: Two polar nuclei of eight-nuclei embryo sac; → showing the polar nucleus; c: Two synergids of eight-nuclei embryo sac; → showing the synergids; d: The polar nuclear of eight-nuclei embryo sac; → showing the polar nucleus; e: The egg cell of eight-nuclei embryo sac; f: embryo sac 1 d after self-pollination; ← showing the egg cell which completed the fecundation and → showing two degenerate synergids. g: one-nuclear embryo sac on the abloom day; → showing the nuclear; h: two-nuclear embryo sac on the abloom day; → showing the two nuclei; i, j: four-nuclear embryo sac on the abloom day, i and j are two sections of one embryo sac, → showing three nuclei; k: one-nuclear embryo sac 5 d after self-pollination, → showing the nuclear; l: two-nuclei embryo sac 7 d after self-pollination, → showing the two nuclei; m, n: four-nuclei embryo sac 7 d after self-pollination, m and n are two sections of one embryo sac, → showing four nuclei

图 2 郁南无核黄皮(g~n)与鸡心黄皮(a~f)胚囊的观察比较($\times 1000$)

Fig. 2 The comparison between the embryo sacs of Yu'nan Seedless Wampee (g~n) and Jixin Wampee (a~f)

对开花当日胚囊发育状况的观察结果(表 1)表明,郁南无核黄皮开花当日,胚囊发育达到成熟胚囊比率仅为 8.1%,鸡心黄皮胚囊发育达到八核期的成熟胚囊比率为 96.7%。因此,郁南无核黄皮开花当日 91.9% 胚囊发育达不到受精的成熟状态。对于花

后 1~7 d 内胚囊发育情况的观察结果(表 1)表明,郁南无核黄皮处于单核期、二核期、四核期的未成熟胚囊占 81.6%,达到八核期的成熟胚囊为 18.4%,未观察到受精的胚囊;而鸡心黄皮 100% 胚囊发育达到成熟胚囊,其中 86.7% 完成受精作用。

表1 开花当日未授粉胚囊及花后7 d 胚囊发育时期的观察结果¹⁾

Tab. 1 The observation of the stages of the embryo sacs before pollination in the flowering day and 7 d after flowering

t^2/d	材料 ³⁾ materials	I	II	III	IV	V	VI
0	郁南无核黄皮(37)	1	6	13	14	3	
	鸡心黄皮(30)	0	0	0	1	29	
7	郁南无核黄皮(49)	1	6	12	21	9	0
	鸡心黄皮(30)	0	0	0	0	4	26

1) I: 四分期, II: 单核期, III: 双核期, IV: 四核期, V: 八核期, VI: 受精胚囊; 2) 观察时间, 0: 开花当日 the flowering day, 7: 花后7 d 7d after flowering; 3) 括号内为清晰可见发育状态的材料观察总个数

3 讨论与结论

3.1 郁南无核黄皮无核结实机理的探讨

本研究结果表明: 郁南无核黄皮胚囊发育异常, 开花当日91.9%胚囊发育滞后, 仍处于八核期胚囊之前, 没有发育达到受精的成熟状态, 无法完成正常的受精作用, 而对花后7 d 的胚囊发育状况的进一步观察显示, 仅有18.4%胚囊发育达到八核期成熟胚囊, 仍有81.6%的胚囊没有发育成熟, 因此, 郁南无核黄皮在开花当天及花后数天绝大多数胚囊均不能发育达到受精的成熟状态, 这就意味着对郁南无核黄皮自花授粉和异花授粉均不能完成正常的受精作用, 从而无法形成种子, 子房在未受精的情况下发育形成了无核果实.

胚胎学研究表明, 无核果实的形成多与胚囊败育有关, 受精前的胚囊败育或受精后的胚胎败育均有可能导致产生无核果实. 陈建业等^[8]研究发现, 吉首沙田柚少核的原因是由于多数幼胚中途停止发育所致, 即属于受精后的胚胎败育; 而根据肖金平等^[9]的报道, 丽楂2号楂柑无核的主要原因是胚囊高度败育, 即属于受精前的胚囊败育. 本文对郁南无核黄皮开花前后胚囊发育的细胞学观察结果表明, 其无核的主要原因是受精前胚囊高度败育, 与肖金平等^[9]报道的“丽楂2号楂柑”一致.

笔者曾对郁南无核黄皮花粉育性进行过研究^[6], 结果表明其花粉萌发率极低, 即使萌发, 花粉管亦短, 且花粉发育不均匀, 大小差异显著, 而对其体细胞染色体数目的进一步观察表明, 郁南无核黄皮是一个混倍体变异株^[10], 因此, 可以认为体细胞染色体数目的异常是导致其雌性和雄性胚子体(即胚囊和花粉)受精前高度败育的根本原因.

3.2 郁南无核黄皮无核性状的稳定性

不同品种的无核黄皮无核果实形成的机理不

同, 如龙山无核黄皮无核的原因是由于其花粉管偏短, 自交不亲和, 但是其胚囊发育正常, 与有核黄皮混种时仍可结有核果实, 因此, 在生产上必须与有核黄皮隔离一定的距离栽种, 才能保持其无核的优良性状^[11]. 而对郁南无核黄皮无核结实机理的研究表明, 其不仅花粉发育异常, 而且胚囊发育亦异常, 因此, 与有核黄皮混种时仍能保持高度的无核性状的稳定性. 因此, 生产中郁南无核黄皮的种植不用特意避开有核黄皮.

参考文献:

- [1] 江新能, 李峰. 无核黄皮优良品种(类型)选择研究[J]. 广西植物, 2003 (3): 9-11.
- [2] 徐炯志, 冼忠江. 无核黄皮生物学特性及栽培技术[J]. 广西农业科学, 1998(1): 17-18.
- [3] 李升锋, 陈卫东, 徐玉娟, 等. 无核黄皮的营养成分[J]. 食品科技, 2005(6): 96-98.
- [4] 潘晓芳, 秦彦梅. 黄皮花粉萌发研究[J]. 广西农业生物科学, 2001, 20(3): 182-185.
- [5] 潘晓芳, 黄宝灵, 卢宣文. 林院1号无核黄皮无籽结实研究[J]. 广西科学, 2001, 8(3): 223-226, 235.
- [6] 冯莉, 刘蕊, 郭丽荣 等. 郁南无核黄皮花果生长发育的生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2005(6): 42-45.
- [7] 李正理. 植物制片技术[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 129-137.
- [8] 陈建业, 石雪晖, 向宏翠 等. 吉首沙田柚少核机理研究: I. 吉首沙田柚少核原因及其果实品质初探[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2002, 28(1): 22-25.
- [9] 肖金平, 谭金娟, 刘海琳 等. 丽楂2号楂柑无核机制研究[J]. 果树学报, 2007, 24(4): 421-426.
- [10] 冯莉, 刘蕊. 郁南无核黄皮染色体倍性变异研究初报[J]. 中国农学通报, 2007, 23(9): 115-118.
- [11] 丘瑞强. 揭西县龙山无核黄皮的成因与生产应用探讨[J]. 广东农业科学, 1990(2): 24-28.

【责任编辑 周志红】