

楸 树

有性生殖 与 发 育

QIUSHU YOUXINGSHENGZHI YU FAYU

樊莉丽 彭方仁 主编



中原出版传媒集团
中原传媒股份公司

河南科学技术出版社

楸树有性生殖与发育

樊莉丽 彭方仁 主编

河南科学技术出版社

· 郑州 ·

图书在版编目(CIP)数据

楸树有性生殖与发育/樊莉丽,彭方仁主编.—郑州:河南科学技术出版社,2018.3
ISBN 978-7-5349-8608-6

I.①楸… II.①樊… ②彭… III.①楸树-有性繁殖 IV.①S792.99

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第012351号

出版发行:河南科学技术出版社

地址:郑州市经五路66号 邮编:450002

电话:(0371) 65737028 65788613

网址:www.hnstp.cn

策划编辑:陈淑芹

责任编辑:张 鹏

责任校对:金兰苹

封面设计:张 伟

版式设计:栾亚平

责任印制:张 巍

印 刷:河南新华印刷集团有限公司

经 销:全国新华书店

幅面尺寸:185 mm×260 mm 印张:6.75 字数:164千字

版 次:2018年3月第1版 2018年3月第1次印刷

定 价:98.00元

如发现印、装质量问题,影响阅读,请与出版社联系并调换。

《楸树有性生殖与发育》编写人员名单

主 编	樊莉丽	彭方仁		
副 主 编	樊 巍	赵 辉		
编写人员	梁有旺	谭鹏鹏	郝明灼	王改萍
	吴莺莺	周 琦	樊伟娜	吕鹏浩
	田 丽	孙 曼	苗作云	李剑侠

前 言

生殖是植物生长发育到一定阶段,通过产生新的个体延续种族的最基本行为和过程,是植物种群形成、发展和演化的核心,也是生物群落和生态系统演替的基础。植物的有性生殖是指由亲代产生生殖细胞,通过两性生殖细胞的结合,成为受精卵,进而发育成新个体的生殖方式。植物的有性生殖包括性细胞的发育、传粉、受精以及胚胎发育等过程。本书以我国特有的珍贵优质用材树种和著名园林观赏树种——楸树为研究对象,从整体的、发育的角度,深入探讨了楸树有性生殖全过程,并从生殖生态学角度重点论述了楸树繁育系统特征,以及其自交不亲和的细胞生物学表现。全书以翔实、精美的显微、亚显微结构照片,向读者展示了楸树有性生殖的全貌,带领读者进入楸树种族繁衍的微观世界。

楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Meyer) 在我国已有几千年的栽培历史,其分布广、适应性强、利用价值高,集材用、药用、观赏、环保等众多优点于一身,自古享有“木王”美誉。目前,国家正加大珍贵用材树种的开发力度,楸树作为历史悠久的珍贵、优质用材树种,具有极大的发展空间。自 20 世纪 70—80 年代起,楸树的良好繁育、速生丰产等问题就被国家林业部门列入重点攻关项目和重点课题。先后有中国林业科学院林业所、河南省林业科学院、洛阳林业科研所、山东省林业科学院、安徽省林业科学院、南京林业大学、西北农林大学、山东农业大学、河北农业大学等参与各项研究,形成了良好的科研氛围。其中河南、江苏两省以其独特的资源优势和技术优势,成为全国楸树的科研核心。然而,早期的众多研究更偏重于优良无性系选育、快繁技术体系建立等生产应用型研究,仅有南京林业大学楸树科研团队在叶培忠先生的带领下,开展了楸树胚胎学的基础理论研究和杂交育种工作。由于多方面原因,相关研究工作未能持续开展,一些科学问题和猜想,也未能得到进一步论证。所以,本书针对这些问题,历经多年,深入开展了理论性探索,通过对其有性生殖过程进行胚胎学研究,对繁育系统特征进行调查研究,从生殖生物学和生态学角度对相关问题做了系统解答,以期在理论与实践两方面解决楸树有性繁殖困难的问题,填补此方面的科研空白。

全书以楸树有性生殖发生过程的主要事件为主线,系统地对其物候特征及花芽分化,大小孢子发生与雌雄配子发育,繁育系统特征,传粉受精过程,杂交种胚乳的发育及种子特性等做了深入探讨。笔者利用生物显微技术,对楸树性器官的发生、发育及其有性生殖过程,进行了系统研究与详尽阐述。一方面向读者展示了楸树混合芽的分化、性器官的发生、传粉、双受精合子的发育等有性生殖过程的显微及亚显微结构;另一方面从生殖生态学角度出发,重点论述了楸树繁育系统特征以及其自交不亲



和的细胞生物学表现。该论著针对楸树“花而不实”的现象，从个体、群体和环境三个方面，探讨了其原因，首次提出了花粉受限对该地区楸树种群繁衍的影响；针对楸树杂交育种的方向性问题，从理论上证实了楸树种内杂交的亲性和性优于种间杂交。值得一提的是，书中对楸树自交不亲和和类型的界定，在 120 属 650 种现已查明的紫葳科植物中尚属首例。此外，提出了楸树大、小孢子形态系统演化路线两极化、二裂触敏柱头的自交进化等观点，也都具有重要的学术价值，是对国内外相关领域研究的良好补充。

全书共分为七个章节，其中第一章、第四章、第五章、第七章由樊莉丽、彭方仁、赵辉编写；第二章由梁有旺、谭鹏鹏编写；第三章由樊巍、苗作云、李剑侠、周琦编写；第六章由郝明灼、王改萍、吴莺莺、田丽编写；樊伟娜、吕鹏浩、孙曼负责全部章节及参考文献的校对、编排等工作。全书由樊莉丽、彭方仁负责统稿、定稿。由于水平有限，书中可能有错漏之处，敬请广大读者批评指正。

编者

2015 年 6 月



目 录

第 1 章	绪论	1
1. 1	植物生殖生物学研究进展	1
1. 2	梓属植物生殖生物学研究进展	11
第 2 章	楸树物候特征及花芽分化的研究	17
2. 1	材料与方法	18
2. 2	结果与分析	19
2. 3	结论与讨论	23
第 3 章	楸树大小孢子发生与雌雄配子发育的研究	27
3. 1	材料与方法	27
3. 2	结果与分析	28
3. 3	结论与讨论	32
第 4 章	楸树繁育系统的研究	38
4. 1	材料与方法	38
4. 2	结果与分析	40
4. 3	结论与讨论	44
第 5 章	楸树传粉与受精过程研究	51
5. 1	材料与方法	51
5. 2	结果与分析	53
5. 3	结论与讨论	58
第 6 章	楸树杂交种胚、胚乳的发育及种子特性的研究	66
6. 1	材料与方法	66
6. 2	结果与分析	67
6. 3	结论与讨论	72
第 7 章	研究展望	80
7. 1	主要结论	80
7. 2	特色与创新	84
7. 3	展望	85
参考文献		86

第1章 绪论

1.1 植物生殖生物学研究进展

生殖是生物繁衍后代、延续种族最基本的行为和过程，它不仅是种群形成、发展和进化的核心问题之一，也是生物群落和生态系统演替的基础。植物的生命活动周期包括相互依存的两个方面：一方面是维持它本身一代的生存，另一方面是保持其种群的延续。植物本身一代的生存是有一定时限的，尽管不同种类植物的生存时期有长有短，但是都要经过衰老阶段，直至最后死亡。所以植物在生长发育到一定阶段的时候，就必然会通过一定的方式，从它本身产生新的个体来延续后代，这就是植物的生殖。植物类群自然条件下个体数量的增多和居群的扩大都要通过生殖过程来实现。生殖过程中任何一个环节出现问题，都将导致生殖能力的降低，结果往往造成其个体数量减少，种群不能维持，从而威胁物种的生存，最终导致植物种濒危（方炎明，1996；魏晓慧，2006）。

植物生殖生物学是研究植物有性生殖过程的一门分支学科，它涉及性细胞发育、传粉与受精，以及胚胎发生等，是由植物胚胎学演变而来的（陈祖铿，1996）。初期的胚胎学主要是对研究对象进行形态描述。20世纪初期，胚胎学逐步从形态描述性研究向比较和实验性研究延伸。比较胚胎学将早期积累的描述性胚胎学研究成果，应用到比较和分析某些植物类群的胚胎学特性，以阐明植物系统发育的关系。这一领域的发展，有助于阐明生殖系统本身的演化规律，同时对解决分类学上的某些疑难问题也有一定作用。而20世纪50年代后期，实验胚胎学的发展，一方面有助于对生殖过程发育规律的认识，另一方面为育种实践提供理论依据和实用的新方法。20世纪60年代以后，植物胚胎学在农业生产实践的迫切要求下和生物科学迅速发展的推动下，逐步向综合性学科演进。细胞生物学与分子生物学的方法、技术被广泛用来研究胚胎学的问题，使得胚胎学在性质上发生了转变，即从传统的形态学范畴，逐渐演变为一门交叉性、综合性的学科——植物生殖生物学（胡适宜，2005）。

在新的发展时期，植物生殖生物学具体研究角度可概括为以下三个主攻方向：第一，生殖过程中结构与功能关系的研究；第二，生殖过程的实验研究；第三，生殖过程的分子生物学研究（胡适宜，2005）。关于第一个研究方向，人们借助电子显微镜和连续半薄、超薄切片技术，对生殖过程中多数环节的认识提高到超微结构水平。揭示了原来在光镜下难以分辨的结构特征，定义了许多新概念，如：雄性生殖单位（male



germ unit) (Russell and Cass, 1981; Dumas, at al., 1984; Mogensen, 1992)、雌性生殖单位 (female germ unit) (Huang and Russell, 1992)、精子二型性 (sperm dimorphism) (Bressac, at al., 1991) 等。同时, 运用各种显微技术、细胞化学和免疫学等方法, 探讨了一些结构在生殖系统中的作用和功能, 如: 微管 (microtubule) 与微丝 (microfilament) 在花粉管生长、花粉管胞质环流、生殖细胞与精细胞的移动, 以及细胞分裂等方面的维持、引导等作用; 传递细胞 (transfer cell) 典型的壁内突结构反映其活跃的膜运输功能; 花药绒毡层、珠心和珠被细胞、宿存的反足细胞、胚乳吸器、胚柄等组织结构中常有的多倍体现象, 与其活跃的生理功能相一致; 大、小孢子体胞质改组现象的实质是消除一些孢子体信息物质, 为配子体基因组的表达准备一个合适的环境等。在生殖过程的实验研究方面, 主要围绕“离体受精”展开。首先是性细胞的分离技术, 如建立二步渗透等方法批量分离精细胞; 利用显微操作和酶解相结合的方法分离出一定数量的有活性的胚囊和卵细胞。与此同时, 微培养技术迅速发展, 如花粉粒培养、花粉原生质体培养、合子及幼胚的培养等, 都先后获得了成功。在此基础上, 精卵的体外融合成为可能。最早由 Lorz 的实验室利用原生质体电融合的方法完成了玉米精细胞和卵细胞的体外融合, 并得到了由人工合子发育而成的小植株。随后, Dumas 的实验室等完成了离体配子细胞核的直接融合。在精卵离体融合实验成功以后, 利用这一实验系统开展了一系列理论问题研究, 如对倾向受精、多精入卵、合子激活等机制的探讨 (杨弘远, 2002; 孙蒙祥、杨弘远, 2002; 邱义兰等, 2003)。现代生殖生物学第三个研究方向是 20 世纪最后十几年兴起的, 借助各种分子生物学方法, 研究生殖发育中基因控制与表达的规律, 如: 花药和花粉、雌蕊和雌配子发育的基因调控, 自交不亲和性的分子基础, 胚胎以及种子发育的基因调控等 (许智宏, 1999)。这一研究方向所取得的成果, 提高了人们对生殖过程中器官和组织发生的时间与空间调控, 极性与分化, 以及发育中的程序性死亡等机制的认识。

通常对某种植物生殖生物学的研究, 主要集中在生殖过程的胚胎学观察、物候观察与生殖特性、繁育系统、传粉生物学、结实结籽特性等几个方面, 研究目的在于通过对植物生殖过程的动态研究, 揭示其自身生殖发育的特点及其与外界环境的相互关系, 找到生殖过程中的薄弱环节和限制性因素, 使得人们能够利用有效的实验技术手段来完善植物生殖过程中的薄弱环节, 在一定程度上克服生殖障碍, 使其有效、成功地完成生殖, 从而为制定合理的保护与管理措施提供理论依据。

1.1.1 花芽分化的研究

被子植物个体发育到一定阶段之后, 便会由营养生长转向生殖生长。花芽分化即指植物从叶芽的生理和组织状态转化为花芽的生理和组织状态的过程。花芽分化一般分为两个阶段: 生理分化和形态分化。生理分化发生在形态分化之前, 也叫花的孕育期; 当芽轴上出现花原基或花序原基时, 即进入花芽形态分化时期。早期 Lang (1952) 将成花过程分为四个阶段: ①花发端 (Flower initiation), 指花原基 (flower primordium) 的开始分化; ②花器官分化 (Flower organization), 指花器官 (萼片、花瓣、雄蕊、雌蕊) 的分化; ③花成熟 (Flower maturation), 包括花器官生长, 性细胞分化并产

生花粉、胚囊及雌、雄配子的过程；④开花（Anthesis）。前两个阶段为形态分化（morphological differentiation），合称为花芽分化（flower differentiation）；后两个阶段合称为发育（development）。目前，植物的成花过程通常划分为以下三个阶段：①成花决定（flowering determination），是指植物感受外界信号刺激，茎尖由营养生长点生理状态转化为生殖生长点生理状态；②花的发端（flower evocation），是指茎端分生组织转变成花分生组织，形成花原基；③花器官的发育（floral organ development），是指顶端分生组织产生可识别的花原基和花器官的过程。成花决定在我国通常称为花芽生理分化；花原基和花器官的形成统称为花芽形态分化（张妹媛，2008）。

从形态解剖学来看，营养顶端与生殖顶端的区别在于：生殖端常较营养端更大、更宽、更平（曹慧娟，1989；陈机，1992）。从功能上来看，营养端的基本功能是促进轴的伸长生长，而生殖端的功能是产生具有大面积的分生组织罩，由此产生花的各部分（Philipson，1947）。伴随着形态和组织结构的变化，营养顶端向生殖顶端转变的过程中，也发生着一系列细胞学和组织学方面的变化。比如细胞分裂频率的加大，细胞超微结构的变化，C/N比、核质比、DNA、RNA及蛋白质成分的变化等（吴邦良等，1995；Blanchard and Runkle，2008）。一般情况下，花芽分化的顺序是先由生殖顶端的分生组织分裂产生苞片原基、花序原基或花原基，紧接着由花原基分化产生各花器官。通常花器官出现的顺序是自下而上陆续发生，即萼片→花瓣→雄蕊→雌蕊（谢成章，1984）。但往往各花器官的生长速率不同，如花瓣可能在雄蕊之前出现，但发育较迟缓，其主要生长期只发生在雄蕊完全停止生长之后，有时花瓣和雄蕊可能在开花前的一个短时间内加快生长（陈机，1992）。

花的形态建成是一个极其复杂的过程，在完成这一过程中受到植物体自身和外界环境条件的共同制约，牵涉多种基因的相互作用与协调。Coen 和 Meyerowitz（1991）提出了基因控制花形态发生的 ABC 模型之后，又先后出现了 ABCD 和 ABCDE 模型（李贵生等，2003）。然而，花器官的形成是一个逐渐变化的过程，其中每一个阶段均涉及不同基因的表达。同时花不同器官的特征也受到不同基因的控制。植物花器官建成是一个基因按程序自动表达的过程，然而相关基因的功能和基因间的协作关系还不十分清楚。

1.1.2 小孢子及雄配子发育的研究

被子植物的雄性器官是雄蕊，雄蕊包括花药和花丝两部分。花药通常具有 4 个小孢子囊或花粉囊。在小孢子发生时期，花药分化出花药壁和造孢组织两部分。花药壁含有四种组织，即药室外壁（表皮）、药室内壁、中层和绒毡层。造孢细胞发育成为小孢子母细胞，也称花粉母细胞。小孢子母细胞经过减数分裂形成 4 个小孢子，它们包藏在共同的胼胝质壁中，称为小孢子四分体或四分孢子。小孢子经有丝分裂产生 1 个营养细胞和 1 个生殖细胞，此时进入雄配子体阶段。早期的雄配子体也称为双核花粉。成熟的花粉由 2 个或 3 个细胞组成，分别称为二细胞型花粉和三细胞型花粉。约 70% 的被子植物的成熟花粉是二细胞型花粉。其余 30% 被子植物的花粉是三细胞型花粉，包括 1 个营养细胞和 2 个精细胞，即雄配子。雄配子是由生殖细胞有丝分裂产生的。



许多植物中,花药内的减数分裂是同步进行的,原因不是十分清楚。有人认为是花粉母细胞之间存在大量胞间连丝的原因,但这种观点似乎很牵强,因为胞间连丝相当多地存在于不同类型的细胞之间(许智宏、刘春明,1997)。减数分裂之后形成的小孢子的第一次有丝分裂为不对称分裂,由此产生两个发育命运完全不同的2个细胞核——营养核和生殖核,因此,这种分裂可以认为是一种决定性分裂。营养核不再分裂,其体积比生殖核大得多,它的功能是作为一个“能源站”,为花粉粒的进一步发育和花粉管的生长提供养分和能源,将精子细胞运送到位于子房内的胚囊中。小孢子的第二次有丝分裂是生殖核经过一次有丝分裂,产生2个精子细胞。精子细胞几乎不含有线粒体,但具有浓缩的染色质和少量内质网,而且核孔密度也比较低(Wagner et al., 1990)。

花粉壁的分化通常与孢母细胞的分化同时进行。成熟的花粉壁有两层结构,外壁和内壁。内壁主要由果胶和纤维素组成,而外壁则主要含有孢粉质,对降解作用有很强的抵御能力。不同植物的花粉外壁的表面结构差异很大,有棘状、网状嵴等(Bedinger, 1992; Bedinger, 1994)。这种表面结构形态是由孢子体决定,这一点可以通过杂交实验得以证明。例如,番茄(*Lycopersicon esculentum*)和近缘野生种 *L. pennellii* 杂交的F1代花粉没有外壁表面结构的分离(Quiros, 1975)。花粉壁的表面结构是在减数分裂过程中形成的,在四分体依然包括在胼胝质内的时候,这种表面结构就已经可以分辨出来了,表现为质膜的突起。然而在细胞水平上,这种物种特异性的花粉壁表面结构是如何形成的,目前可以说是一无所知。推测胼胝质壁可能在花粉壁的淀积过程中起到了骨架作用,因为当小孢子过早从胼胝质壁中释放出来时,其外壁发育不正常,并且导致小孢子破裂(Worrall, et al., 1992)。

小孢子或雄配子的发育异常会引发雄性不育,最终导致植物有性生殖过程的失败。王亚玲等(2008)曾总结认为:小孢子发生及雄配子体发育阶段的异常是导致濒危木兰科(Magnoliaceae Jussieu)植物生殖失败的主要原因之一。如:红花木莲 [*Manglietia insignis* (Wall.) Bl.] 小孢子形成过程中,在次生造孢细胞、花粉母细胞及减数分裂的二分体时期都会出现异常(潘跃芝等, 2001);濒危植物香木莲 (*Manglietia aromatica* Dandy) 的花粉萌发率只有0.01%(潘跃芝等, 2003);香港木兰在次生造孢细胞、小孢子母细胞、四分体时期都会出现败育,且在很多成熟花药中全部是败育的单核花粉(王亚玲等, 2008)。另外,木兰科植物鹅掌楸 [*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sargent] 发生在小孢子减数分裂四分体形成前的异常,也是限制其生殖成功的重要原因(尹增芳等, 1997, 1998)。濒危物种木根麦冬 (*Ophiopogon xyloorrhizus* Wang et Tai) 有性生殖的薄弱环节中雄性不育是很重要的一个原因(何田华等, 1998)。珍稀濒危植物矮牡丹 (*Paeonia jishanensis* T. Hong et W. Z. Zhao) 的小孢子母细胞减数分裂异常,形成大量无活力的花粉,是影响其生殖成功的一方面影响因素,但花粉发育的异常并不是导致矮牡丹濒危的主要原因,自然传粉后胚珠高达85%的败育率和极低的种子萌发力是导致其日渐濒危的主要原因(张寿洲等, 1997; 潘开玉等, 1999)。在凹叶厚朴的小孢子发生和雄配子发育过程中,存在如下障碍:部分花药内同一花粉囊内小孢子母细胞减数分裂不同步,以及小孢子母细胞在减数分裂前发生收缩胶合,以致不能进

行正常的减数分裂；在小孢子从四分体中释放出来后，部分小孢子由于收缩过度而成“骨形”，不能进行正常液泡化，不能进行正常有丝分裂；部分花粉囊在二核花粉发育时期，中层和绒毡层未退化完全，使得花粉继续发育缺乏营养。这些败育现象是引起凹叶厚朴自然繁殖率降低，并逐步走向濒危的重要原因之一（王利琳等，2005）。

1.1.3 大孢子与雌配子发育的研究

大孢子和雌配子的发育始于胚珠的发育。胚珠是由子房内部的胎座区的 L2 和 L3 细胞层平周分裂产生（Bouman, 1984）。胎座区的位置和排列方式在被子植物中高度变异，是一种重要的分类特征。胚珠是产生大孢子和胚囊的特化结构，并且是受精和胚胎发生的场所。胚珠由珠心、珠柄和一层（或两层）珠被结构组成。珠心发生于胚珠原基的顶端。

在胚珠出现不久，位于胚珠端部的表皮之下的一个细胞开始膨大，该细胞含有显著的细胞核，即为孢原细胞。孢原细胞可以直接形成大孢子母细胞，也可以经过有丝分裂产生两个细胞，其中一个形成大孢子母细胞，而另外一个只是一般的体细胞（Bouman, 1984）。有些植物，如大豆，可以有多个孢原细胞，但其中只有一个发育成大孢子母细胞。控制孢原细胞的发生和大孢子母细胞决定的因子还一无所知。由于大孢子母细胞位于珠心的顶端，提示位置效应可能是大孢子母细胞特化的一个重要因子。孢原细胞先后经历大孢子发生时期和雌配子发生时期。在大孢子发生时期，大孢子母细胞进行减数分裂，产生 4 个大孢子核。在胚囊发生时期，大孢子核进行有丝分裂、细胞核迁移和细胞质分裂产生成熟的胚囊。不同植物中胚囊的发育模式变化很大，可分为单孢子型、双孢子型和四孢子型三大类型。划分这三种类型的主要标准是减数分裂后产生的 4 个大孢子有几个参与胚囊的形成，如在单孢子胚囊中，减数分裂后产生 4 个单倍体的大孢子，其中 3 个退化，只有近合点端的 1 个参与八核胚囊的形成。这是最常见的一种类型，研究过的植物中有 70% 属于这种类型。双孢子型和四孢子型则分别有 2 个和 4 个孢子参与胚囊的形成。有人认为胼胝质参与了功能大孢子的选择（Rodkiewicz, 1970）。在大孢子发生期间，胼胝质首先在大孢子母细胞的细胞壁上累积，然后在大孢子壁上累积。减数分裂后，有功能的大孢子细胞壁上的胼胝质变薄甚至完全消失，而没有功能的大孢子壁上则仍有较厚的胼胝质，由此来保证有功能的大孢子可以从珠心中吸收营养物质。这一点从四孢子型植物上也可以看出，由于在这类植物中不存在孢子的退化，所以在孢子细胞壁上也观察不到胼胝质的累积。雌配子体是由有功能的大孢子产生。在单孢型胚囊中，位于合点端的有功能大孢子先膨大，然后进行第一次有丝分裂，所产生的两个细胞核分别向两极移动，细胞的中央部位被一个大液泡充满。然后这 2 个细胞核分别进行两次有丝分裂，但是没有新细胞板形成，由此产生了 1 个八核胚囊，细胞壁的形成在随后完成。但是位于胚囊中心的 2 个极核一直处于游离核状态。成熟的胚囊（又称为雌配子体）具有 1 个卵细胞、2 个与卵细胞相邻的助细胞、3 个位于合点端的反足细胞和两个极核。这些细胞分别在受精、胚胎发生、胚乳形成过程中起重要作用。卵细胞位于胚囊的珠孔端，以后将与精子融合产生合子，开始胚胎发育过程；助细胞位于卵细胞的两侧，这 2 个细胞在受精过程中特别



是引导花粉管走向卵细胞中可能起重要作用(许智宏、刘春明, 1997); 中央细胞位于胚囊的中央, 在受精时其中的 2 个极核和 1 个精子核融合, 产生三倍体的初生胚乳核, 初生胚乳核的分裂形成胚乳; 位于合点端的 3 个反足细胞在生殖过程中所起的作用尚不清楚, 一般认为它们可能参与了将营养物质运输到胚囊内的过程。

珠被发生于珠心的基部, 珠被原基伸展形成指状突起, 进而分化形成两层珠被, 在少数情况下只有一层珠被。在两层珠被的情况下, 内珠被一般来自于表皮细胞(L1), 而外珠被则通常来自表皮和表皮下层细胞(L2)。由于珠被两侧的细胞分裂速率不同, 造成外珠被一开始形成就不对称, 并由此导致胚珠的弯曲, 弯曲的程度可以作为形态分类的指标。倒生胚珠表现出高度的弯曲, 以至于胚珠的长轴和胚柄的长轴平行。由于珠被的生长速度比珠心的生长速度快, 最后导致珠心完全被珠被包裹起来。珠被可以进一步分化, 特别是靠近胚囊的一层或多层细胞分化形成具有滋养功能的珠被绒毡层。珠被绒毡层和花药绒毡层的细胞学特征很相似, 推测可能具有类似的生物学功能, 即为胚囊的发育提供营养(Maheshwari, 1950)。珠被在包裹珠心后, 会在顶端留下一个小孔, 称为珠孔, 是授粉过程中花粉管的通道。

大孢子发生或雌配子发育过程中的异常容易引发雌性不育, 雌性不育是导致植物种子败育的一个重要因素。王仲礼等(1998a, 1998b, 1999)对短柄五加(*Eleutherococcus brachypus* Harms.)的胚胎学研究结果认为: 在大孢子发生与雌配子体发育过程中, 存在一定比例的退化胚囊, 从解剖结构看主要是成熟胚囊未经受精造成的。因为花柱的发育与胚囊发育的不协调, 导致花粉管进入胚囊时间过迟, 致使成熟胚囊未能及时受精而退化。刘林德等(1998a, 1998b, 1998c)对刺五加[*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim]三种性别类型的植株分别进行了胚胎学研究, 结果表明: 雄株存在雌性不育现象; 雌株存在雄性不育现象, 且成熟胚囊因花粉限制受精不良而大量退化; 两性株花粉粒大小悬殊, 发育不同步, 许多胚囊发育异常, 部分正常胚囊因花粉限制而受精不良、发育不良。雌、雄性生殖器官不同时期不同原因的败育是造成其渐危的主要原因。木兰科(Magnoliaceae)的许多濒危树种都存在雌性功能不全或较弱的现象。例如凹叶厚朴[*Magnolia officinalis subsp. biloba* (Rehd. et Wils.) Cheng et Law]的大孢子发生和雌配子发育过程中, 四分体和成熟胚囊时期存在发育异常现象, 其中四分体的异常导致功能大孢子不能正常形成, 成熟胚囊液泡化导致卵细胞退化萎缩, 最终胚囊败育(王利琳等, 2005)。观光木(*Tsoongiodendron odorum* Chun)在雌配子体发生发育的过程中, 正常发育的胚珠数量及比例逐渐减少, 在四分体和成熟胚囊时期有一定数量的生殖细胞结构凝缩和解体, 最终导致胚珠败育。而在印尼木莲(*Magnolia grandiflora*)和广西含笑(*Michelia champaca*)的雌配子发育过程中, 不仅在四分体和成熟胚囊时期观察到了败育现象, 在二分体、功能大孢子、二核胚囊等时期都看到了异常发育现象的发生(唐源江等, 2003)。雌性败育现象在果树中比较常见, 比如杏在花芽分化进入雌蕊分化后会表现出多种雌蕊发育不良和畸变现象, 主要有生长点发育不均匀、花柱弯曲、向内回拢、花柱扭曲变形、花柱萎缩、柱头弯曲生长、柱头不均匀膨大等(李隐生等, 1986; 王保明等, 2000; 胡国富等, 2005)。

1.1.4 繁育系统的研究

繁育系统的研究始于人类文明之初,大约在公元前1500年,亚述王宫就有对枣椰树(*Phoenix dactylifera*)进行人工授粉的浮雕(何亚平等,2003; Proctor, et al., 1996)。18世纪初, Dobbs 等首先发现植物异交现象以及昆虫在植物异交中的作用(何亚平等,2003; Proctor, et al., 1996)。18世纪下半叶, Kolreuter 发明人工杂交, Sprengel 创立了花理论(花为昆虫传粉而设计),这两项工作是研究繁育系统的最基本的方法(Real, 1983)。Darwin (1876) 利用人工杂交方法揭示了自交和异交的效果及不同花型对繁育系统的适应和影响,建立起了植物繁育系统研究的基本理论和方法。但该学科的发展曾在相当长的一段时间内未受到重视。近年来,由于人们对生物多样性不断减少的担心,转而关注生态系统中动植物之间的相互关系,重新重视植物繁育系统的研究(Proctor, et al., 1996),并取得了新的进展。如异花传粉机制的不断被发现,并得到分子系统发育树的进一步的检验。分子生物学领域中有关异花传粉中花结构变异发育的分子控制过程,以及花粉-柱头识别机制不断被深入探讨(何亚平等,2003)。人们不再只是简单描述花外部性状的性表达方式及其对昆虫的传粉适应,而是将花各性器官的表达、花的开放式样、花发育模式、花粉-柱头识别等,以及定量测定和分析、定性模拟等引入到繁育系统研究中来。交配系统的研究由于等位酶技术、RAPD、SSR、AFLP 等分子标记技术在繁育系统中的成功应用,进入了一个新的研究层次;同时一些原有的结论如近交衰退在维持混合交配系统进化中的主导作用,在濒危物种中保护远缘居群、利用远交方法来提高后代生存力等也受到严重挑战。植物繁育系统研究,实际上已成为一个以“生殖”为核心,以探讨物种多样性发生历史、维持机制和保护策略为最终目的的综合交叉研究(何亚平等,2003)。

经典的繁育系统(breeding system)概念是由 Heywood 建立的。Heywood 认为,繁育系统是指控制种群或分类群内自体受精或异体受精相对频率的各种生理形态机制系统(陈家宽、杨继,1994)。此概念把繁育系统分为有性和无性两大类,把有性生殖分为自体受精和异体受精两部分。Jain (1976) 把繁育系统分为了远交、近交、无融合生殖、兼性无融合生殖和营养繁殖。Hamrick (1990) 则把繁育系统分为有性生殖和有性无性混合型生殖,把繁育系统的有性生殖部分区分为自交、混合交配和异交。交配系统(mating system)是包括生物有机体中那些控制着配子如何结合,以及形成合子的所有属性(陈家宽、杨继,1994)。严格地讲,配子由雄性传递给雌性的方式决定着有性生殖的物种两世代间本质的联系,这种传递方式就是一个种的交配系统。在对交配系统概念的理解中,王中仁(1996)认为不包括无融合生殖在内的繁育系统就是交配系统。所以,狭义的交配系统概念只与有性生殖有关。但也有些人认为,交配系统决定了基因在相邻世代间的传递方式,不一定非与有性过程有关,无性生殖方式只是绕过了受精,世代间的基因传递没有经过遗传重组,可视为有性生殖过程中的异化类型。因此,广义的交配系统实质上和繁育系统意义相当。

对植物繁育系统的多样化及其作用模式和机制的研究,是理解植物各类群进化的一个重要基础(郭友好等,1998)。在自然界中,雌雄异株和闭花受精分别是远交机制



和自交机制的极端例子,当然在这两种极端类型之间,还存在有许多的过渡类型。就性表达而言,雌雄两性器官在植物中的分布有多种情况,除雌雄异株(dioecy)、两性花植物(hermaphroditism)以外,还包括雌雄同株(monoecy)、雄花两性花同株(andromonoecy)、雌花两性花同株(gynomoecy)、雌花两性花异株(gynodioecy)、雄花两性花异株(androdioecy)、三性花同株(trimonoecy)、三性花异株(trioecy)。其中在两性花植物中,除性别分离可促进异交外,雌雄两性器官通过多种形式的空间上的分离(雌雄异位,herkogamy)、成熟时间的不同(雌雄异熟,dichogamy)以及生理上的机制(自交不亲和,self-incompatibility)来达到雌雄两性分离的现象也非常普遍(Uyenoya, 2000)。如李庆军等(2001)在单子叶植物姜科山姜属(*Alpinia*)植物中发现了一种独特的性多态现象(sexual polymorphism),即每个种的花在同一特定时间内都有两种花柱表现型:柱头上举型(anaflexisty)和柱头下垂型(cataflexisty),在不同的时间内,两类花通过花柱位置的变化来实现花雌、雄性的转变。该机制在功能上类似于异型雌雄异熟(heterodichogamy)(Barrett, 2002a),是植物为避免自交,在时间和空间上的共同适应。

1.1.5 受精过程的研究

被子植物受精过程包括:花粉在柱头萌发并长出花粉管,花粉管生长并通过花柱,花粉管进入胚囊和释放内容物,配子融合等一系列事件(胡适宜, 2005)。花粉管是雄配子到达雌配子体的载体。花粉管从柱头的细胞壁之间进入柱头,向下生长,进入花柱。花粉管进入柱头和在花柱中生长的通路和柱头、花柱特有的结构及腺质细胞构成的引导组织有关。在具干型柱头和实心花柱的植物中,花粉管进入柱头首先需要由花粉管分泌角质酶和壁降解酶,使柱头上的角质层和细胞壁成分被破坏,然后通过柱头与花柱引导组织的细胞间隙生长。引导组织通常具有大的细胞间隙及充满渗出物或细胞具厚的中层,提供了有利于花粉管生长的道路。少数植物花粉管生长是通过纵向细胞壁,甚至花粉管可穿入细胞通过细胞腔生长。在具有开放柱头和空心花柱的植物中,花粉管在花柱中沿通道表面的引导组织细胞的表面生长。在通道中通常也充满由引导组织细胞分泌的物质。

花粉管生长经过花柱到达子房后,继续沿胎座向胚珠生长。通常花粉管经珠孔进入胚珠,但也可从合点或胚珠中部进入。花粉管进入胚珠后穿过珠心组织进入胚囊。花粉管定向地生长和从珠孔进入胚囊,一般认为是由胚囊中助细胞产生的向化性物质的作用,通过丝状器分泌到珠孔或相邻的珠心细胞。吸引花粉管生长的物质现在认为至少包括三类物质:简单的无机盐(如钙离子)、单糖(如葡萄糖)和低相对分子质量的酸性蛋白。钙对于花粉管在体内的生长是必不可缺少的,并造成一个钙梯度分布引导花粉管生长。

花粉管进入胚囊总是首先到达两个助细胞中的一个。接受花粉管的助细胞或迟或早退化,大多数植物退化发生在传粉后和花粉管在花柱中生长时。通常在受精前后胚囊中的两个助细胞中仅一个退化,另一个宿存,而花粉管的进入总是到达退化的助细胞中。助细胞的退化与引导花粉管进入胚囊、促使花粉管释放精子和帮助精子的转移

有关。在助细胞中含高浓度的钙及在退化过程中钙浓度增加,超常的钙含量可能是助细胞退化的重要因素。在受精过程中,对助细胞程序性的凋亡的研究有重要的意义。在胚囊中的两个助细胞哪一个退化,哪一个宿存,在一些植物中的表现是有规律的。例如大麦,退化的一个助细胞多位于近胎座一侧;在向日葵中,退化助细胞是位于近珠柄一侧的一个。助细胞退化的这种“位置效应”,推测是由花粉管产生的信号沿珠柄一侧扩散到胚囊,从而诱导该侧的助细胞退化。不过,有的植物助细胞退化在位置上的倾向性是不明显的,如亚麻,而在烟草中是随机的。因此,有关为什么仅一个助细胞退化及选择性的机制,仍有待进一步研究。

在被子植物独特的双受精中,一个精细胞与卵细胞融合,形成受精卵;而另一个精细胞与中央细胞融合,形成初生胚乳核。融合涉及一个花粉管中的一对精细胞,它们哪一个与卵融合,哪一个与中央细胞融合,是预定的,还是随机的,以及这两个精细胞之间是否有分化等问题尚待研究。精卵识别是了解受精机制的关键问题,也是当前植物生殖生物学研究的前沿课题。关于被子植物受精中雌雄配子融合的机制,有随机假说和特异受体假说两种假说。随机假说是指精子与卵细胞的受精是随机结合,并且一个精细胞与卵结合后随即发生阻止多精入卵反应;特异受体假说则认为雌雄配子融合是由细胞表面特异的识别因子所预定的,两个精细胞表面质膜具有不同的决定因子,这种因子与卵细胞(或中央细胞)的表面可以互补。

1.1.6 胚和胚乳发育的研究

按照 Soueges (1940) 的观点,可以将胚胎发育分为原胚发育和胚发育两个阶段,胚的发育从合子分裂开始,经过原胚、胚的分化阶段,最后达到成熟。双子叶植物胚的发育大致经历原胚 (proembryo)、球形胚 (globular embryo)、心形胚 (heart-shape embryo)、鱼雷胚 (torpedo-stage embryo) 和子叶胚 (bent-cotyledon) 等几个阶段。根据顶细胞的分裂面及基细胞参与胚本体构成的程度,将胚的发生分为五种类型:十字花型 (crucifertype)、紫菀型 (asterad type)、藜型 (chenopodiad type)、茄型 (solanad type)、石竹型 (caryophyllad type)、胡椒型 (Piperad type)。随着胚和胚乳的不断发育,整个胚珠发育成种子,胚珠的珠被发育成种皮 (周云龙, 2004)。

黄坚钦等 (1995) 研究了濒危植物中鹅掌楸 (*Liriodendron chinensis*) 的双受精过程、胚胎发生的过程等,并试图从胚胎学角度探讨濒危原因;吴彦琼等 (2004) 研究了蒜头果 (*Malania oleifera*) 的生殖生物学特性。此外,Label, et al. (1994) 发现欧洲黑杨 (*Populus nigra* L.) 在受精前后子房内部的脱落酸含量不变。20 世纪 90 年代,Kranz, et al. (1991, 1993) 在玉米体外受精方面首先取得突破,并进一步使人工合子发育成可育植株。传统植物胚胎学的研究都对胚胎发育过程进行了大量细胞形态描述,光学显微镜和电子显微镜的应用为目前胚胎发育的分子生物学的研究奠定了坚实的基础。

根据初生胚乳核分裂后是否形成壁,早期胚乳发育可分为三种主要模式:核型 (nuclear type)、细胞型 (cellular type) 和沼生目型 (helobial type) (胡适宜, 2005)。胚乳的发育分为四个时期:合胞体、细胞化、分化和死亡。这几个时期的长度和重叠



程度，依物种不同而有差异。核型胚乳是禾谷类植物和双子叶植物胚乳发育的典型模式（王晓燕等，2005；张晖，2008）。其特征是初生胚乳核经历数轮分裂而胞质不分裂，形成由许多游离核在中央细胞中靠边缘排列的合胞体。这种游离核的定位，表明在早期合胞体中可能有预存于大配子体中的定位信息起作用。随后胞质开始分裂，由四周逐渐向中央液泡推进，直至胚乳全部细胞化。细胞型胚乳常见于番茄属植物，以及景天科、唇形花科、紫薇科等的植物中。在细胞型胚乳的发育过程中，初生胚乳核第一次分裂后，细胞即开始有丝分裂和胞质分裂，并贯穿于整个胚乳发育过程。在细胞型胚乳早期发育中，不同科的植物不仅表现有各种的胞质分裂方式，而且常常在珠孔端或合点端或两端特化形成吸器。沼生目型胚乳发育模式在自然界很少见，主要见于单子叶植物的科，如水鳖科和眼子菜科等，并如其名在沼生目中占优势。有人认为是前两者的过渡类型，初生胚乳核第一次分裂时形成细胞壁，将胚囊分隔成1个大的珠孔室和1个小的合点室。在珠孔室进行多次的游离核分裂，至发育后期形成细胞；而在合点室保留不分裂或只进行少数几次分裂，可能一直保留游离核或呈退化状态，有的植物也可形成细胞（樊庆颖，2010）。

胚乳吸器是胚乳在发育过程中可能从合点、珠孔端或从侧面扩张形成的结构，具有从珠心、珠被和合点组织吸收营养物质运输到胚乳本体的功能（胡适宜，2005）。胚乳吸器主要见于核型和细胞型胚乳中。细胞胚乳形成特殊形态的吸器，这些吸器往往位于珠孔端、合点端或在两端同时出现。胚乳吸器的数量、形态、位置以及存在时间因种而异，在多种植物中都有报道（Chopra and Agarwal, 1958）。爵床科（*Acanthaceae*）的一些种中，胚乳外形不对称，在珠孔端和合点端都形成吸器。如在双翅花（*Dipteracanthus patulus*）和假杜鹃（*Barleria cristata*）中，初生胚乳核第一次分裂形成1个小的合点室和1个大的珠孔室，珠孔室再一次横分裂，形成一行3个细胞，中央区细胞发育为胚乳本体，而珠孔端和合点端细胞发育为吸器。在狸藻科（*Lentibulariaceae*）中初生胚乳核第一次横向大致垂直胚囊分裂，并产生横向壁。合点室与珠孔室都进行一次纵分裂形成由4个方形细胞组成的胚乳。接下来珠孔端2个细胞横分裂产生4个细胞，此时为6个细胞胚乳。这6个细胞胚乳分3排，每排2个，居中的2个细胞不断分裂后形成胚乳本体。合点端2个细胞的壁重组并深入珠被组织形成合点吸器，并且每个细胞始终保持双核。珠孔室的2个细胞也形成珠孔吸器，但并不像合点吸器那样扩张到胚囊以外区域（Sundararajan, et al., 1983）。日本与印度学者对玄参科植物研究较多，对胚乳吸器的研究也较为深入系统。在尖果母草 [*Lindernia hyssopoides* (L.) Haines] 中初生胚乳核横分裂，形成较短小的合点室与较长的珠孔室。这2个细胞再进行纵分裂，形成了分两层排列的4个细胞。下侧2个细胞发育成胚乳合点吸器，少数情况下，其中1个细胞进行一次纵分裂形成三细胞胚乳合点吸器。上侧的2个细胞进行一次纵分裂和一次横分裂，形成2排细胞，上部4个细胞发育为珠孔吸器，下部4个发育为胚乳本体。胚乳珠孔吸器较合点吸器较早退化（Govindapp, et al., 1970）。在尼泊尔沟酸浆中，初生胚乳核横分裂形成珠孔室与合点室，之后两细胞都进行纵分裂，珠孔室分裂略早。两个合点端细胞再进行分裂，形成4个细胞，发育为合点吸器。珠孔端的2个细胞进行横分裂，形成上下两层各2个细胞。然后又进行一次