

金花茶 *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama

小孢子囊、小孢子和雄配子体的发育*

李天庆 曹慧娟

摘要 详细报导了金花茶小孢子囊、小孢子和雄配子体的发育过程。幼嫩花药的横切显示花药的外侧由一层表皮、一层药室内壁、1—2层中层和一层绒毡层细胞组成；内为5—8个由孢原细胞转化成的孢子母细胞。小孢子的发育具双子叶植物的一般特征。绒毡层腺质；小孢子四分体四面体形；花粉粒在成熟时具二细胞。

在扫描电镜下观察，花粉粒为拟三孔沟的；小孢子壁形成时开始在线毡层内切线壁出现的球状体到花粉粒成熟时仍有一部分附着于花粉粒表面。

由孢子母细胞到小孢子的形成过程，在不同的花药，同一花药的不同花粉囊，甚至在同一个花粉囊内都显示不同步现象。

在偏光显微镜下证实小孢子形成后细胞内开始有淀粉累积，生殖细胞形成时累积最多。到生殖细胞向营养细胞内移动时逐渐消失而转化为其它的贮藏物。

染色体数目为 $n = x = 15$,

关键词 金花茶，花药，小孢子发生，雄配子体

前言

金花茶是我国特产的珍稀植物，在我国发现后为世界花卉界所重视，研究它的有性生殖过程对金花茶的杂交育种有重要的实践意义；同时，金花茶组的新种目前尚不断出现，本研究也将在分类和系统发生方面提供资料。茶科胚胎学的报道不多[3, 4, 5, 7, 8, 9]，且集中于茶 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze., 金花茶则未见报道。本文是我们对金花茶研究的一部分。

* 本文承陈俊愉教授审阅。部分材料由广西南宁树木园邓朝佐同志，新竹苗圃莫树业、李道梅同志帮助采集，显微技术中心赵楠、张辉协助部分实验室工作，特此致谢。

此文于1985年10月17日收到。

材料与方法

研究材料部分取自模式标本产地，部分取自由原产地移植至广西南宁树木园与新竹苗圃的开花植株，于1980—1984年每年12月至次年2月采集了一系列由花芽至开花期间的材料，剥去花瓣和萼片，固定于F·A·A及纳瓦兴液中。为确定内部发育时期与花苞及花药大小的关系，用醋酸洋红作了涂片观察，然后有选择的作石蜡包埋，切片厚度10—14 μ ，铁矾苏木精染色，观察及照相。研究贮藏物质时使用了偏振光显微镜。研究成熟花粉时使用了扫描电镜，方法是花药经各级丙酮脱水，醋酸异戊酯代换，临界点干燥，离子溅射法镀金膜，在S-520扫描电镜下观察、照相。

观察结果

一、小孢子囊的发育

金花茶的雄蕊有长的花丝，排成数轮，基部轻度联合并与花瓣下部连生。幼嫩花药的横切显示每一幼嫩药室中有3—5个细胞组成的孢原组织。孢原细胞分裂形成内外两层，前者经分裂成为小孢子母细胞群，后者经平周及垂周分裂产生3—5层细胞，因此花药的壁由表皮、药室内壁、1—2层中层和绒毡层组成（图版I 4，5）。中间有5—8个小孢子母细胞。

表皮只有垂周分裂，随花药的加大细胞伸长变平以保持与内部生长同步，并宿存到花药成熟，花药内壁在花粉即将散出时发育至最大并伴随有纤维状加厚（图版I 7）。中层在小孢子母细胞开始减数分裂时染色变深，表明开始退化，到花粉粒由一核分为二核时仍然可见到花粉成熟时只留残迹（图版I 6，7）。

绒毡层初形成时单核，在小孢子母细胞进入减数分裂时细胞质变浓、细胞核变大，有1—3核。小孢子形成时绒毡层开始退化。在小孢子壁发育过程中，绒毡层的内切向壁表面在光镜下可观察到有大量球状体（图版I 6），花粉粒成熟后在扫描电镜下仍可见有些球状体附着在其表面（图版I 2、3）。退化的绒毡层在原位被吸收，其核与质不进入药室。

花药成熟时，每侧两个花粉囊之间的壁部分破裂，花药纵向裂开。

二、小孢子的发生

金花茶花药的发育在同一朵花中有很大差异，可以同时观察到花丝已相当伸长且花粉粒已接近成熟的花药和花丝尚未伸长处于小孢子母细胞时期的花药；同一花药的不同花粉囊及同一花粉囊中的不同细胞发育也不同步。图版I 9中的一个花药，其中一个花粉囊中小孢子母细胞处于前期I而另一个花粉囊中的已进入末期II；图版I 8示一个花粉囊，小孢子母细胞分别处于前期I到末期I。

金花茶小孢子母细胞减数分裂的时期很短，因而很难捕捉。我们用涂片法观察了大量大小不同的花药，发现处于减数分裂时期的花药比我们预料的小得多。虽然成熟花药的平均宽度为0.8mm，长度为1.5mm，但处于减数分裂时期的花药平均宽度仅为0.4mm，长0.5mm。此时整个花蕾的宽度平均只有5mm，长6mm。这一时期生长很快，必需把握最适当的时间，才能获得减数分裂过程的图像。

小孢子母细胞减数分裂的过程如图版II 1—15所示。前期I经历的时间相对较长。互相

紧密靠近的小孢子母细胞在进入前期Ⅰ时开始互相分离并逐渐形成一个胼胝质的壁。开始分裂的小孢子母细胞，顺序经过前细线期、细线期、偶线期、粗线期、双线期、终变期而进入中期Ⅰ；此时小孢子母细胞已完全互相分离，细胞由多面体形逐渐变为球形。金花茶绝大多数的小孢子母细胞减数分裂正常，仅有极少数在后期Ⅰ有个别落后染色体形成染色体“桥”或处由纺锤体之外（图版Ⅰ13、15）。减数分裂Ⅰ结束后不发生胞质分裂，也不形成壁。

减数分裂Ⅱ的前期很短，末期Ⅰ结束后随即出现新的染色体（图版Ⅰ16）。进入中期Ⅱ时形成两个互相垂直的纺锤体，经后期Ⅱ和末期Ⅱ然后发生胞质分裂和形成新壁，因而小孢子四分体为四面体形（图版Ⅰ1—4）。小孢子四分体由于共同的胼胝质壁溶解而彼此分开。

在中期Ⅰ及中期Ⅱ均可看到染色体数目为 $n = x = 15$ 。

三、雄配子体的发育

刚形成的小孢子有浓厚的细胞质和位于中央的核，其外围以在四分体时期就开始形成的壁。随着小孢子体积的增大，小孢子逐渐液泡化，然后形成一中央液泡，细胞核移至一侧。接着进行有丝分裂，追踪了这一分裂的全过程（图版Ⅰ6—12）。分裂出来的两个细胞朝向壁的一个为生殖细胞；朝向中央液泡的一个为营养细胞。由于分裂的不均等性，所形成的两个细胞大小悬殊，营养细胞较大，生殖细胞较小，作凸透镜形。随后生殖细胞逐渐脱离小孢子的壁进入到营养细胞中，此时中央液泡又为小液泡取代，成熟花粉观察不到明显的液泡。伴随着小孢子的分裂，壁也逐渐发育；在扫描电镜下成熟花粉的壁布满浅疣状突起，具三拟孔沟（图版Ⅰ6，2，3）。

小孢子在分裂初期，可见到有颗粒状贮藏物的累积，经偏振光显微镜检查确定是淀粉。淀粉的累积在分裂完成后数量最多（图版Ⅰ9—13），到生殖细胞开始进入营养细胞时又逐渐消失，成熟花粉中的贮藏物质不以淀粉粒的形式存在。成熟花粉具二细胞。

讨 论

一、一般认为^[1, 2, 6]小孢子母细胞减数分裂是高度同步的，其原因据认为是小孢子母细胞有原生质道相连，形成合孢体，因而在营养分配上成为一个系统，金花茶中观察到减数分裂的大量不同步现象的原因，可能与后来的小孢子分裂的不同步一样，是由于小孢子母细胞互相分开时胼胝质壁形成过早，使它们之间的细胞质道在早期即堵塞，造成营养分配的不均所致；此外也可能有遗传上的原因，即金花茶分布在亚热带雨林中，开花时期又值雨季，连系到不同药室、不同雄蕊的发育不同步现象，可认为是处于此种环境下而延长传粉期的一种适应。

二、树木育种中常遇到的问题是天然杂种的杂交后代鉴定上的困难，加之树木的天然杂种相当普遍（如杨属、金花茶组中也有发现），因此对亲本的了解是十分重要的问题。金花茶的减数分裂以及成熟花粉粒的检查，都极少出现不正常现象，因而可以把金花茶看作是一个比较稳定的天然种源用于杂交育种工作。

三、球状体（乌氏体）已在一些植物中有过报道，金花茶中存在球状体的事实，给它的普遍性增添了资料。

参 考 文 献

- [1] 胡适宜, 1982, 被子植物胚胎学, 人民教育出版社。
- [2] Johri, B. M. (ed.) 1967, Seminar on comparative embryology of angiosperms, Nat. Inst. Sci. India, New Delhi.
- [3] Kapil, R. N. and Sethi, S. B. 1963, Development of male and female gametophytes in *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. Proc. Nat. Inst. Sci. India. 29(B): 567—574.
- [4] Keng, H. 1962, Comparative morphological studies in Theaceae. Univ. Calif. Publ. Bot. 33: 269—384.
- [5] Sethi, S. Bala. 1965, Structure and development of seed in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. Proc. Natn. Inst. Sci. India 31(B): 24—33.
- [6] Shivanna, K. R., Johri, B. M. and Sastri, D. C. 1979, Development and physiology of angiosperm pollen. Today & tomorrow's printers and publishers, India.
- [7] Simura, T., and Oosone, K. 1956, Studies on the fertilization of tea plant. Jap. J. Breed., 6: 111—114.
- [8] Tomo, N., Fuchinoue, Y., and Fuchinoue, H. 1958, Embryological study on seeds of a fruit of tea plant, Jap. J. Breed., 8: 48.
- [9] Wu, H. K. 1960, Embryogenesis in tea plant, Bot. Bull. Acad. Sinica., 1: 165—168.

MICROSPOROGENESIS AND DEVELOPMENT OF MALE
GAMETOPHYTE OF *CAMELLIA CHRYSANTHA* (HU) TUYAMA

Li Tianqing Cao Huijuan

Abstract Microsporogenesis and development of male gametophyte of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama are studied. X-section of young anther shows it consists of 1 layer of epidermis, 1 layer of endothecium, 1—2 middle layers and 1 layer of tapetum; inner part are 5—8 microspore mother cells. The process of microsporogenesis are the normal type of most dicotyledoneae. Glandular tapetum, microspore tetrad quadrilateral, matured pollen grains are 2-celled.

SEM observation state that the pollen grain are tricolporoidate. The orbiculate bodies which appeared on the inner tangential wall of the tapetum at the time of microspore wall formation are partially remain on the surface of matured pollen grain.

The process which from microspore mother cell to microspore formation shows unsynchronously between different anther, different microsporangium of the same anther, even different cells within a microsporangium.

Polarized microscopy confirmed that starch began to accumulate in the cytoplasm soon after microspore formation, with a maximum volume at the time of generative cell and gradually disappeared/changed to other reserves when the generative cell move into the vegetative cell.

Key words *Camellia chrysantha*, anther, male gametophyte

一些山茶属(*Camellia* L.) 植物的细胞染色体研究*

曹慧娟 李天庆

摘要 本文研究了我国原产的山茶属植物东兴金花茶 (*Camellia tungkingensis* Chang.), 平果金花茶 (*C. Pingguoensis* D. Fang), 毛籽金花茶 (*C. ptilosperma* S. Y. Liang et Q. D. Chen), 凹脉金花茶 (*C. impressinervis* Chang et S. Y. Liang), 金花茶 (*C. chrysanthra* (Hu) Tugama), 毛瓣金花茶 (*C. pubipetala* Y. Wan et S. Z. Huang), 小果金花茶 (*C. chrysanthra* var. *microcarpa* S. L. M et S. Z. Huang), 广宁红花油茶 (*C. semiserrata* C. W. Chi), 苑田红花油茶 (*C. polyodonta* Chun et How), 腾冲红花油茶 (*C. reticulata* f. *simplex*), 五宝山茶 (*C. japonica* L. 'Wabao'), 云南大叶茶 (*C. sinensis* var. *macrophylla* Sieb.), 共12个种、变种和品种的染色体数目。除腾冲红花油茶 $2n=90$ 外, 其余的 $2n=30$, 并研究了其中3个种、变种和品种的核型: 毛瓣金花茶为 $2n=2x=30=26m(2SAT)+4sm$; 小果金花茶为 $2n=2x=30=24m(2SAT)+6sm$; 五宝山茶为 $2n=2x=30=24m(2SAT)+6sm(2SAT)$

7个种、变种和品种的染色体数目和其中3个核型为首次报道。

关键词 染色体, 核型, 山茶属

前 言

山茶属 (*Camellia* L.) 植物主要包括了大量的园艺植物、木本油料和作为饮料的茶, 具有重要的观赏价值和经济价值, 我国广为栽培。对山茶属植物的引种、育种工作早在18世纪国外就已开始, 近几十年来育出了许多新的品种^[6, 8]。随着育种工作的需要, 细胞染色体方面的研究开始也较早, Morinaga 等 (1929) 首次对茶 (*C. sinensis*) 作了染色体计数的报道^[13]、之后 Simura (1935)^[15]、Patterson (1950)^[14]、Janaki Ammal (1952)^[8]、Longleg (1959, 1950)^[11, 12]、Kondo (1979)^[9]、萩屋 薰 (1982)^[16]等研究者先

* 本文承陈俊愉教授审阅, 广西南宁新竹苗圃莫树业、李道梅、王连冬, 南宁树木园邓朝佐, 长沙烈士公园李振秋, 昆明园林研究所等同志提供种子, 北林显微技术中心实验室赵楠同志协助部分制片, 一并致谢。

此文于1985年10月17日收到。

后报道过一些种、变种和品种的染色体数目及几个种的核型。我国是山茶属植物的主要原产地,在世界约220种山茶植物中,我国原产的约195种,占世界总数的89%^[1],而且近年来还陆续有新种发现,其中如自胡先绣(1965)首次发现金花茶(*C. chrysantha*)以来至今已有近20种和变种黄色花茶在我国广西等地发现,是世界稀有的珍贵植物。显然我国是山茶属植物起源和变异的中心,有着极其丰富的野生的、半野生的栽培的种质资源。随着我国山茶属植物育种工作的开展,搞清每个种的染色体数目及核型是必需的,以提供研究山茶属植物的起源、分类、演化、杂交育种的细胞学资料。关于山茶属细胞染色体的研究我国开始较晚,黄少甫、赵治芬(1981)^[4]、黄锦培、邹琦丽(1982)^[5]、黎麦秋(1982)等人进行过报道。本文按张宏达先生分类系统^[2]研究了分属于山茶属的茶亚属 *Subgen Thea*(L.)Chang、金花茶组 *Sect Chrysantha* Chang; 茶组 *Sect Thea*(L.)Dyer和山茶亚属 *Subgen Camellia* 红山茶组 *Sect Camellia* 二个亚属 3个组的12个种、变种及品种的染色体数目和其中3个做了核型分析,并对一个种的不同地理种源的染色体数进行了观察。

材 料 和 方 法

研究材料为上述12个种、变种和品种,全部实验用的种子均采自原产地或由原产地移植园内的树木。种子以赭石或细砂培养萌发,至幼根长约1.5—3 cm时切取根尖,用对二氯代苯饱和液予处理6小时,乙醇—冰醋酸(3:1)固定液固定8—24小时,转入70%酒精中,冰箱保存备用。固定的根尖经水洗后用1 N盐酸于60°C解离15分钟,或用6 N盐酸室温下解离约35分钟,水洗几次,用苯酚品红(Carbol fuchsin)染色液染色并压片,冰冻脱盖片,45°C温箱烘干,DPX胶封片。

除根尖制片外,另取金花茶、毛籽金花茶、云南大叶茶的幼嫩花药用0.2%秋水仙液予处理2小时或用对二氯代苯饱和液予处理4小时,按上述步骤制成切片,观察花粉母细胞减数分裂的中期及终变期。

每种材料染色体计数为40—80个细胞,核型分析统计5—8个细胞不等。取平均值,染色体长度、臂比及类型按Leven^[10]的命名系统。染色体编号以长度顺序排列。

结果和讨论

所观察12个种、变种、品种的染色体数目、形态及核型公式见表1, 2和图版I—Ⅲ所示,现分述如下:

一、染色体数目

(一)所观察的金花茶组的6个种和一个变种的体细胞染色体数是比较恒定的,均为 $2n=30$ (表1,图版I、Ⅲ)。其中金花茶 $2n=30$ 与黄锦培等的报道相同^[5],并获得花粉母细胞减数分裂的终变期、中期I的图象, $n=15$,更进一步证实其为二倍体植物即 $2n=2X=30$ 。

并分别观察计数了邕宁县的塘洛和防城县的那良、防城、大王江等不同产地的金花茶,尽管不同种源植株在形态、习性上有某些差异,但体细胞染色体数均为 $2n=30$ (图版I—1.4)是否有某些二倍体水平上的细微差异,尚须进一步作核型或其它方法的研究。

毛籽金花茶体细胞染色体数为 $2n=30$ (表1,图I—7)。花粉母细胞减数分裂 $n=15$

(图 I—8), 因此 $2n=2X=30$, 除此尚观察到少数形状较正常花粉母细胞大, $n=30$ 或 $n=30-60$ 之间(图 I—9)的细胞 此种花粉母细胞减数分裂中出现的异数性或混倍现象, 可能是由于减数分裂不正常引起的, 并可形成山茶属中常有的大粒花粉, Ackerman^[6]及庄瑞林^[3]都曾指出花粉的大小变异性及不正常花粉的出现率是评价杂种性标准之一, 常可作为杂种性的指标, 联系到毛籽金花茶在黄色花瓣中心呈现红紫色条纹以及结实率低的特征, 分析有可能是一个天然杂种。Ackerman^[6]指出未经减数分裂的大粒花粉的形成在山茶属中是较普遍存在的, 并观察到未经减数的大粒花粉在杂交育种中所起的作用, 以及杂种具杂合性的特点更有利于杂交育种工作, 因而, 毛籽金花茶是值得注意的, 有关这方面的问题, 尚须进一步观察研究。

表 1 12种山茶属植物染色体数目

种 和 变 种	染色体数目	
	2 n	n
* 东兴金花茶 (<i>Camellia tunghinensis</i>)	30	
* 平果金花茶 (<i>C. pingguoensis</i>)	30	
* 毛籽金花茶 (<i>C. ptilosperma</i>)	30	15
* 凹脉金花茶 (<i>C. impressinervis</i>)	30	
* 毛瓣金花茶 (<i>C. pubipetala</i>)	30	
* 小果金花茶 (<i>C. chrysantha</i> var. <i>microcarpa</i>)	30	
金花茶 (<i>C. chrysantha</i>)	30	15
广宁红花油茶 (<i>C. semisserata</i>)	30	
苑田红花油茶 (<i>C. polyodonda</i>)	30	
腾冲红花油茶 (<i>C. reticulata</i> f. <i>simplex</i>)	90	
* 五宝山茶 (<i>C. japonica</i> L. 'Wubao')	30	
云南大叶茶 (<i>C. sinensis</i> var. <i>macrophylla</i>)	30	15

* 示第一次报导

东兴金花茶体细胞染色体数 $2n=30$ (图 I—2), 偶尔观察到在同一根尖上体细胞 $2n=60$ 的混倍现象, 这可能是局部有丝分裂不正常引起的。

平果金花茶、凹脉金花茶、毛瓣金花茶、小果金花茶体细胞染色体数均为 $2n=30$ (图 I—3, 6; 图 III—2, 3)

(二) 红山茶组的广宁红花油茶、苑田红花油茶体细胞染色体数均为 $2n=30$ (图 I—1, 6), 这与黄少甫^[4]、蔡屋 薰^[16]的报道一致。

腾冲红花油茶体细胞数为 $2n=90$ (图 I—2), 与黄少甫^[4]、蔡屋 薰^[16]的报道一致。

五宝山茶体细胞染色体数为 $2n=30$ (图 III—1), 除此, 在同一根尖的体细胞中观察到少数细胞 $2n=60-90$ 的异数或混倍现象(图 I—7)。形成的原因尚待进一步研究, 可能与常期栽培而产生的多样性有关, 这种异数或混倍的细胞是否能够通过细胞培养在快速繁殖无性系中被利用是值得注意的问题。

(三) 茶组的云南大叶茶体细胞染色体数为 $2n=30$ (图 I—3), 与Ramashita(1935)的报道一致。并获得花粉母细胞减数分裂终变期及中期 I 的图象表明 $n=15$ (图 I—4, 5)。

二、染色体组型

对三种植物进行了核型分析, 见表 2 和图 III 所示, 结果如下:

表 2 三种山茶属植物的染色体长度、臂比和类型

种 名	编号	长臂+短臂=总长 (微米)	相对长度%	臂 比	类 型
毛 瓣 金 花 茶 <i>Camellia pubipetala</i> Y. Wan et S. Z. Huang	1	$3.24+1.89=5.18$	9.15	1.72	s m
	2	$2.67+2.05=4.72$	8.34	1.30	m
	3	$2.58+1.86=4.44$	7.84	1.39	m
	4	$2.61+1.81=4.42$	7.81	1.44	m
	5	$2.54+1.74=4.28$	7.56	1.46	m
	6	$2.43+1.67=4.10$	7.24	1.46	m
	7	$2.20+1.66=3.86$	6.81	1.33	m
	8	$2.22+1.57=3.79$	6.69	1.41	m
	9	$2.15+1.54=3.69$	6.52	1.40	m
	10	$2.05+1.54=3.59$	6.34	1.33	m
	11	$1.93+1.48=3.41$	6.02	1.30	m
	12	$2.10+1.05=3.15$	5.56	2.00	s m
	13	$1.72+1.34=3.06$	5.40	1.28	m
	14	$1.56+1.12=2.68$	4.73	1.39	m
	15	$1.38+0.87=2.25^*$	3.97	1.57	m
小 果 金 花 茶 <i>Camellia chrysanth</i> var. <i>microcarpa</i> S. L. M. et S. Z. Huang	1	$3.53+2.01=5.54$	9.55	1.76	s m
	2	$2.80+2.02=4.82$	8.30	1.38	m
	3	$2.77+1.92=4.69$	8.08	1.44	m
	4	$2.73+1.81=4.59$	7.91	1.50	s m
	5	$2.95+1.25=4.20$	7.24	2.38	m
	6	$2.43+1.59=4.02$	6.92	1.52	m
	7	$2.20+1.68=3.88$	6.69	1.31	m
	8	$2.20+1.61=3.81$	6.57	1.37	s m
	9	$2.01+1.61=3.62$	6.24	2.26	m
	10	$1.97+1.58=3.55$	6.12	1.25	m
	11	$2.05+1.33=3.38^*$	5.83	1.54	m
	12	$1.89+1.42=3.31$	5.71	1.33	m
	13	$1.81+1.27=3.18$	5.48	1.50	m
	14	$1.65+1.26=2.91$	5.01	1.30	m
	15	$1.32+1.19=2.51$	4.33	1.11	m

续表

种 名	编号	长臂+短臂=总长 (微米)	相对长度%	臂比	类 型
种 山 宝 五 <i>Camellia japonica</i> L. 'Wubao'	1	$2.87+2.17=5.04$	9.03	1.32	m
	2	$2.55+2.18=4.73$	8.47	1.17	m
	3	$2.43+2.12=4.55$	8.15	1.15	m
	4	$2.48+1.81=4.29$	7.68	1.37	m
	5	$2.50+1.68=4.18$	7.49	1.49	m
	6	$2.31+1.72=4.03$	7.22	1.34	m
	7	$2.15+1.68=3.83$	6.86	1.28	m
	8	$2.08+1.56=3.64$	6.52	1.33	m
	9	$2.48+1.13=3.61$	6.46	2.19	s m
	10	$2.41+1.05=3.46$	6.20	2.30	s m
	11	$1.86+1.49=3.35$	6.00	1.25	m
	12	$1.72+1.39=3.11^*$	5.57	1.24	m
	13	$1.74+1.16=2.90$	5.19	1.50	m
	14	$1.49+1.13=2.62$	4.69	1.32	m
	15	$1.66+0.84=2.50^*$	4.48	1.98	s m

* 为随体、长度未计在内

SAT—chromosome. The length of satellite is not included in chromosome length.

(一) 毛瓣金花茶

核型公式为 $2n=2x=30=26m(2SAT)+4sm$ (表2, 图Ⅱ—2)。染色体长度范围 $2.25—5.18\mu m$, 相对长度变动在 $3.97—9.15\%$, 臂比表明有13对中部着丝点染色体(2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、13、14、15), 其中第15对中部着丝点染色体具随体, 2对近中部着丝点染色体(1, 12)

除以上主要核型特征外, 尚观察到种内在染色体类型(中部着丝点和近中部着丝点)及随体位置稍有差异的现象。

(二) 小果金花茶

核型公式为 $2n=2x=30=24m(2SAT)+6sm$ (表2, 图Ⅱ—3)。染色体长度范围 $2.51—5.54\mu m$, 相对长度变动在 $4.33—9.55\%$, 臂比表明有12对中部着丝点染色体(2、3、4、6、7、8、10、11、12、13、14、15) 其中第11对中部着丝点染色体具随体, 3对近中部着丝点染色体(1、5、9)。

除上述核型外, 也观察到种内染色体类型及随体位置略有差异。

(三) 五宝山茶

核型公式为 $2n=2x=30=24m(2SAT)+6sm(2SAT)$ (表2, 图Ⅱ—1)。染色体长度范围 $2.50—5.04\mu m$, 相对长度变化在 $4.48—9.03\%$, 臂比表明有12对中部着丝点染色体(1、2、3、4、5、6、7、8、11、12、13、14), 其中第12对中部着丝点染色体具随体。有3对近中

部着丝点染色体(9、10、15),其中第15对近中部着丝点染色体具随体。

综上所述所观察的12个种、变种、品种的染色体数目及3个核型来看,与前人已报道的该属的主要特征是相似的。山茶属染色体为中等大小染色体,主要为中部和近中部染色体组成,具1—2对随体。山茶属中存在着从二倍体到八倍体的倍数性系列,即 $2n=30, 60, 75, 90, 120$,少数栽培种有 $2n=45$ 〔4, 5, 7, 11, 12〕,我们观察的除腾冲红花油茶 $2n=90$ 与报道过的云南山茶(*C. reticulata*)一致外,其余11种均为 $2n=30$,也都与报道过的该组内具二倍体的特点相似。根据Ackerman的报道,山茶属各亚属组间的种间杂交都可不同程度地获得杂种,并指出最成功的种间杂交出现在组内,特别是相同倍性的种。作者于1973—1976年间参加以红山茶组种类为母本、金花茶为父本的杂交工作曾获得杂种,以及81年至现在以金花茶为母本的多组合的种间杂交协作研究也都获得杂种种苗的事实,表明金花茶组内及与其它组的种间杂交具亲和性的可能性是存在的。

所观察的金花茶组的6个种和变种的染色体数目和核型也都有相似性,与黄锦培等〔5〕报道过的金花茶(*C. chrysantha*)核型 $2n=2x=30=22m+8sm$ (2SAT)从染色体长度范围,以中部为主的很强对称性的核型类型,1对随体等都较相似,但种间的差异也是明显的,差异主要表现在染色体长度种间相对长度是不同的,染色体类型,随体位置种间也有不同。因而金花茶组各个种之间产生的差异可能仍属于二倍体水平上进行的。

值得指出的是在所观察三个核型中都观察到在种内染色体类型(中部和近中部着丝点染色体)有差异,同时还有少数的同源染色体并非完全相等的情况,Kondo〔9〕曾指出山茶属的染色体从最长到最短逐渐减少,相邻染色体对差异甚微,加之,大量中部着丝点染色体的存在,因此,绝对准确的配对是困难的。同时指出在滇缅茶(*C. irrawadiensis*)和茶树原变种(*C. sinensis* var *sinensis*)中种内有各自的主导核型外,种内尚有一定程度的变异,表现出有异型化核型和异型化同源染色体,并分析异型化多发生在(1)隔离小群体的植物(2)天然杂交、天然群体的高度杂合性(3)栽培品种某些多年生植物出现异型化。对金花茶组各个种的小面积分布以及所观察到的核型的差异,值得进一步研究,这对了解金花茶及其它一些栽培种的起源及育种可能提供重要的信息。

参 考 文 献

- 〔1〕陈俊愉,1980,关于我国花卉种资源问题,园艺学报7(3):57—63.
- 〔2〕张宏达,1981,山茶属植物区系研究,中山大学学报(自然科学)论丛(1).
- 〔3〕庄瑞林,董汝湘,1983,我国油茶主要物种花粉大小与染色体数的初步研究,广西林业科技资料,(4):30—32.
- 〔4〕黄少甫,赵治芬,1981,中国主要油茶物种染色体数的观察,亚林科技,(4).
- 〔5〕黄锦培,邹琦丽,1982,金花茶染色体组型的观察,广西植物2(1):15—16.
- 〔6〕Ackerman W.L.,1971,Genetic and cytological studies with *Camellia* and related genera,Technical Bulletin NO 1427,United States of Agriculture.
- 〔7〕Darlington C. D.,1955,Chromosome atlas of flowering plants.
- 〔8〕Janaki Ammal E. K.,1952,Chromosome relationships in cultivated species of *Camellia*,American *Camellia* Yearbook,106—114.
- 〔9〕Kondo K. et al,1979,山茶栽培品种细胞学研究V.茶组(*Set Thea*)两种核型的种内变异《日本育种杂志》29:3(见山茶译丛,刘洪涛译1982,(1):73—78).

- [10] Levan A., et al., 1964, Nomenclature for centromeric position on chromosomes, *Hereditas* 62: 201—220.
- [11] Longley A.E., et al., 1959, Chromosome numbers of certain *Camellia* species and allied genera, *American Camellia Yearbook* 33—39.
- [12] Longley A.E., et al., 1960, Chromosome numbers of certain *Camellia* species and allied genera, *American Camellia Yearbook*, 70—72.
- [13] Morrinaga T., et al., 1929, Chromosome numbers in cultivated plants, *Bot. Mag. Tokyo* 43: 589.
- [14] Patterson E. B., et al., 1950, Chromosome numbers in cultivated *Camellia*, *American Camellia Yearbook*, 107—133.
- [15] Simura T., 1935, Cytological investigation in tea plants (a preliminary report), *Proc. Sci. Soc. Japan* 7: 121—133.
- [16] 萩屋 薰 1982, 从中国引入山茶属种类的染色体数. 日本山茶协会会志〔椿〕21号 (见《园林绿化译丛》第1辑85—89. 广西植物所)

THE CYTOLOGICAL STUDIES OF CHROMOSOME OF CERTAIN *CAMELLIA* SPECIES

Cao Huijuan Li Tianqing

Abstract The present work report the chromosome number of 12 species, variety and cultivated species of *Camellia* in China. Among which the karyotypes in species, variety and cultivated species were studied. It can be simplified as follow: **Camellia tungghinensis*, **C. pingguoensis*, **C. ptilosperma* **C. impressinervis*, *C. chrysantha*, *C. semiserrata*, *C. polvodonta*, *C. sinensis* var. *macrophylla* reposit 2n=30. *C. reticulata* f. *simplex* 2n=90. **C. pubipetala* 2n=2x=30=26m(2st)+4sm, **C. chrysantha* var. *microcarpa* 2n=2x=30=24m(2SAT) +6sm, **C. japonica* L. 'Wubao' 2n=2x=30=24m (2SAT) +6sm (2SAT) .

The seven species, variety and cultivated species with sign are reported for the first time.

Key words *Camellia*, chromosome, karyotype

金花茶 *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama、 种子早期发育的胚胎学研究

李天庆 曹慧娟

摘要 金花茶子房3—5室，每室3—5个着生在中轴胎座上的具双珠被的倒生胚珠；薄珠心，内珠被的内层细胞不特化；胚囊为蒴型；受精前两个助细胞同时退化；精子球形，与卵接触时稍有增大。描述了配子融合与三核合并的过程。双受精发生于开花四天之内，合子至少在受精后四个月才开始分裂，胚乳极少，合子分裂时只有数个胚乳核。大多数胚珠、胚囊都正常发育。对山茶属的分类进行了讨论；对落果原因进行了分析；对幼胚培养的时间提出了建议。

关键词 金花茶，胚胎学，胚珠，胚囊，双受精作用

前 言

金花茶的杂交育种工作，首先遇到的困难是落果严重，得到的成熟种子数量极少。从胚胎学的角度研究它的发育过程，显然是提供理论依据的重要途径之一。但前人的工作不多且集中于茶 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze [4, 5, 6, 7, 8, 9]，我们着手研究的时候，又面临栽培植株很少，野生植株在原产地也是星散分布在偏僻山野密林，且每株开花也不多，加之金花茶花果期很长，从开花至果熟需一年时间，定期取材的次数也相应增多，不可能采用人工授粉、定期取样进行研究的方法。只能采集不同发育程度的自然授粉的材料加以研究以提供育种工作所需的基本资料。关于花药、小孢子发生、花粉粒的发育我们已有研究报道，本文着重报道胚囊发生、受精作用和早期胚发育的一些研究结果。

材料与方 法

于1982—1984年三年内，分别采集了花蕾至花谢期间的子房347个，时间都集中在1月底2月初的十天内，又在此时期收集了刚脱落地面的40个子房。以后在3、4、5、6月份，

* 本文承陈俊愉教授审阅、广西南宁市新竹苗圃莫树业、王连冬、南宁树木园邓朝佐等同志采集部分材料，北林显微技术中心实验室赵楠、张辉同志协助部分实验室工作，一并致谢。

本文于1985年10月17日收到。

每月采取幼果一次，共采集142个果。小的子房整个固定；大的子房和幼果取出胚珠固定。固定液用FAA和纳瓦兴氏液。经石蜡切片、铁苏木精染色后观察照相；用偏振光显微镜鉴定淀粉。

观察结果

一、金花茶的子房3—5室，中轴胎座，每室3—5个倒生胚珠，双珠被，薄珠心，未观察到珠被绒毡层；内珠被发育较早，然后出现外珠被，珠孔由内珠被组成；具明显的承珠盘。

二、当珠被出现时，只有一个皮下孢原细胞分化并直接具有大孢子母细胞的机能，大孢子母细胞增大很多，并分裂形成二分体，其中上面一个小得多且立即退化，下面一个增大很多形成胚囊母细胞（图版Ⅰ1），此时上面一个二分体细胞的残余仍然可见。以后分裂形成二核，并移向两极，再经过两次连续分裂形成四核及八核胚囊。成熟胚囊有通常的结构（图版Ⅰ2，3，4，5，6）其发育过程为典型的荵型。

三、受精前的卵器具有典型的构造，即两个助细胞的核位于珠孔端，液泡位于合点端（图版Ⅰ7，8）；卵细胞的液泡则位于珠孔端，卵核位于近合点端的细胞质中（图版Ⅰ9）。两个极核在助细胞尚未成大液泡前即靠拢，在助细胞的大液泡形成时合并成为胚囊次生核（图版Ⅰ7，9；图版Ⅱ1）。反足核没有细胞壁形成，游离不久即消失。薄珠心（一层细胞）自胚囊母细胞发育时即开始退化，到胚囊成熟时只留少许残迹，因而成熟胚囊直接被内珠被包围（图版Ⅰ1—7）。

四、由于采集的材料是在将开放的花蕾到柱头枯萎、花瓣凋谢期间的。这一时期对每朵花来说不超过四天，在这些材料内已观察到由孢原到受精完成的过程，由此可以推断由授粉到受精的时间少于四天。受精过程如下：精子在进入胚囊前球形，直径约 3μ ；与卵接触时稍有增大（ $4-6\mu$ ）；然后与卵核融合（图版Ⅱ2，4，5），进入卵核后形成一较小的核仁；然后核膜消失，二核仁融合（图版Ⅱ6—8）。极核在受精前即已合并，精子与合并后的极核（即胚囊次生核）的合并过程与精卵融合相似，先是精核进入后出现一小核仁，然后核膜消失，核仁合并（图版Ⅱ9—12）。

五、六月份采集的胚珠，才开始观察到早期原胚，此时内外珠被都增厚至20—30层细胞，胚囊也相应长大，但胚乳仍只有分散的数个细胞（图版Ⅱ13—16）。此种胚乳不多而胚囊却长大很多的现象，可能表明胚发育所需的营养，不是主要靠胚乳的再转化，而是整个胚囊成为营养库直接供给的。

六、观察了随机抽取40个自然脱落的幼子房中的10个剥出的131个胚珠的切片，得出如下的结果：

萎缩，结构不清楚	珠心原基尚未分化	大孢子母细胞至二核胚囊期	四核胚囊期	八核胚囊至成熟胚囊期	总计
14	7	11	28	71	131

讨论及建议

一、关于山茶属的分类，张宏达先生从形态上分为四个亚属^[2]。我们的研究发现金花茶的內珠被的最内层与其它细胞一样，没有特化的结构，而Kapil (1963) 在茶 (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) 中报道这层细胞辐射伸长但细胞质不比相邻的细胞浓，核也不显著；曹慧娟 (1964) 报道普通油茶 (*C. olifera* Abel) 的这层细胞特化为显著的珠被绒毡层^[3]。前二者属于茶亚属，后者属于山茶亚属。一般认为性器官内部构造比外部形态更为保守，不易受环境的影响，因此这种结构上的显著差异，在有更多的工作后，可能作为区别亚属的特征，也可能从中找出原始与进化的可靠依据。

二、金花茶花后的早期落果，显然不是性器官内部发育的障碍，从我们取自树上的材料看，极罕见败育的胚珠、胚囊和卵器，从自然脱落的材料看，也证明多数胚珠及其胚囊的发育是正常的，因此可以得出这种结论。此外金花茶有开花不是过多的习性，而且在实际人工授粉过程中，也多结合了疏花工作，因而营养竞争造成落果的可能性并不很大。除考虑亲合性因素之外，要从花粉的质量和授粉的技术和方法上加以改进。

三、为克服落果引起的种子少收或不收，国内已开展了幼胚的组织培养，根据我们的研究，金花茶的胚发育要在授粉后四个月以后才开始，这一点Wu (1960) 在茶中也有报道^[10]。建议早期幼胚的组培取材要在6月以后，鱼雷胚时期开始试验，逐步提早，6月以前合子未分裂而处于休眠状态，培养是困难的。

四、在偏振光显微镜下，观察到淀粉的累积和转化有两个时期；一是由一核胚囊开始出现到成熟胚囊时消失，可认为是胚囊发育所消耗；二是卵受精后开始累积，合子分裂后消失，可认为是胚发育所耗尽。表明在开花前及胚发育前是养料消耗的高峰，因此在一月及六月适时施肥可能有助于克服早期和后期落果。

参 考 文 献

- [1] 胡连宜, 1982, 被子植物胚胎学, 人民教育出版社。
- [2] 张宏连, 1981, 山茶属植物的系统研究, 中山大学学报编辑部。
- [3] 曹慧娟, 1965, 油茶的胚胎学观察, 植物学报13 (1): 44—60。
- [4] Johri, B. M., 1967, Seminar on comparative embryology of angiosperms, Nat. Inst. Sci. India.
- [5] Kapil, R. N., and Sethi, S. B., 1963, Development of male and female gametophyte in *Camellia sinensis*, Proc. Nat. Inst. Sci., India 29 (B): 567—574.
- [6] Keng, H., 1962, Comparative studies in Theaceae, Univ. Calif. Publ. 33: 269—384.
- [7] Sethi, S. Bala, 1965, Structure and development of seed in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. Proc. Nat. Inst. Sci. India. 31(B): 24—33.
- [8] Simura, T., and Oosone, K., 1956, Studies on the fertilization of tea plant, Jap. J. Breed., 6: 111—114.
- [9] Tome, N., Fuchineue, Y. and Fuchinoue, H. 1958, Embryological

- study on seed of a fruit of tea plant. Jap. J. Brdee., 8: 48.
- [10] Wu, H. K., 1960. Embryogenesis in tea plant. Bot. Bull. Acad. Sinica., 1: 165—168.

EMBRYOLOGICAL STUDY ON THE EARLY DEVELOPMENT OF SEEDS OF *CAMELLIA CHRYSANTHA* (HU) TUYAMA

Li Tianqing Cao Huijuan

Abstract Ovary of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama. 3—5 locules, bearing 3—5 anatropous bi-integument ovules, axile placentation, tenuinucellate ovule. The inner layer of inner integument not characterized; embryo sac allium type; both synergids degenerated before fertilization; sperm spheric, expended when it contact with egg nuclear. The process of syngamy and triple fusion were described; double fertilization appeared in four days after blooming; zygote start to divided at least in four months after fertilization; endosperm very few, only several when zygote divided. Most ovule and embryo sac develop normally. The taxonomy relation of genus *Camellia* and the causes of fruit drop were discussed. The collecting time of specimen using in embryo culture and optimum fertilizing time were given.

With 2 plate and 25 figures.

Key words *Camellia chrysantha*, embryological study, ovary, embryo sac, double fertilization