

## 马尾松胚胎发育的观察研究\*

王培蒂 秦国峰

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

**摘要** 在自然条件下, 马尾松成熟花粉粒发育需6个月, 授粉有效期在球鳞展开的头5天。授粉后雌配子体游离核时期持续12个月, 从游离核到细胞化约需7天。颈卵器2~3个, 受精作用发生在授粉后第13个月。原胚期约30天, 幼胚期约40天, 成熟胚期约60天; 从球花芽分化到种子成熟约需24个月。在形态发育的观察中, 发现低温冻害会引起花粉在发育各阶段的形态异常及大量败育。

**关键词** 马尾松; 胚胎发育; 花粉粒败育; 低温

近年来, 国内对马尾松花粉粒的发育及成熟花粉细胞结构特征曾有一些阶段性的研究<sup>[1,2]</sup>, 但在胚胎学方面的研究甚少。为此, 我们在完成“马尾松雌雄球花的形态发育研究”<sup>[3]</sup>之后, 继续对马尾松种子胚胎阶段的发育进行研究。现将结果报道如下。

### 一、材料和方法

1. 采样地点 试样采自浙江淳安县姥山林场马尾松试验观察区的当地种源植株。该场地处29°37' N, 119°03' E, 年平均气温17℃, 日平均气温 $\geq 10$ ℃的年积温为5410℃; 年降水量1430mm; 年日照1951h。固定采样株为生长良好的6年生实生植株。

2. 采样时间 雄球花: 1987年3月16日至4月10日及1988年3月至4月17日, 芽鳞全数张开前后, 每隔5天或每天采样1次。雌球花: 1987年4月8~16日及1988年4月9~27日隔5天或2天采样1次。球果: 授粉后当年球果1988年4月30日至6月每5天采样; 7~12月每30天采样。次年(即第2年球果)1~10月每隔5~15天采样1次。球果采样后测定生长量。

3. 试样处理 及时切取球花之中、上部, 于当年5月至翌年5月取其胚珠, 以后直到10月份取其种子。每次取样15~20个, 浸于FAA液中固定。常规石蜡切片法制片, 试样均为纵切, 切片厚10 $\mu$ m, 铁矾苏木精与固绿对染。

4. 球果剖析 于10月底球果成熟时采集同一种源的4株松树的全部球果。逐个掰开球果种鳞, 检查种鳞内结籽情况, 分别计算空鳞率(种鳞腹面无翅无籽)、残翅率(种鳞内无种子仅残存种翅)、瘪籽率(有种翅和外形完整的外种皮, 但无种仁)及实籽率(发育完全的种子)等。并对球果上、中、下不同部位的结籽情况进行比较, 用“可数资料率差异显著性测验”统计分析<sup>[4]</sup>。

本文于1989年11月20日收到。

\*该项研究及论文, 承蒙李文钿教授指导与审阅, 特此致谢。

## 二、观察结果

### (一) 雌配子体的发育

4月11~17日珠心游离端的珠被细胞分离形成珠孔道,开始接受花粉。在此时间,深埋在珠心组织内的大孢子母细胞形成<sup>[3]</sup>,偶而见有2个并列大孢子母细胞。减数分裂后期见于4月13日至19日,4月23日珠被的中间层细胞以垂直于珠孔壁方向伸长,珠孔道闭合,停止接受花粉。5月上旬花粉管长入珠心(图版I-5)。授粉当年的5月至翌年的5月雌配子体为游离核时期(图版I-6)。6月上旬雌配子体开始形成细胞壁,呈蜂窝状发育生长(图版I-9),最后形成多细胞的雌配子体。6月中旬雌配子体近珠孔的一端,有的细胞成为颈卵器原始细胞,原始细胞分裂形成颈细胞和中央细胞,后者又分裂形成卵细胞和腹沟细胞(图版II-10)。卵细胞有一卵核和许多蛋白泡。马尾松的颈卵器有2~3个,顶生。

海绵组织出现在大孢子母细胞时期,以4~5层细胞(在台点处多些)包围着雌配子体,在雌配子体开始细胞化时逐渐解体(图版I-9),到颈卵器原始细胞形成后海绵组织消失。

### (二) 雄配子体在珠心中继续发育

授粉时,珠鳞张开花粉粒直接落在花粉室内,经过9~12天萌发出花粉管<sup>[3]</sup>,5月初花粉管开始长入珠心,花粉粒单管(图版I-4),至第二年3月花粉管一直在珠心组织内缓慢生长(图版I-5)。以后随着气温大幅度升高,花粉管迅速生长,不断伸向珠心深处。5月下旬可见到花粉管内有异型精子出现(图版I-8),形成了含6细胞的成熟雄配子体。据测定此时花粉管内的各细胞周围有很多淀粉粒物质。

### (三) 受精和胚的形成

6月底花粉管进入雌配子体(图版II-11),7月中旬受精后受精卵形成具有初生胚柄和胚细胞层的原胚,细胞排列整齐,故原胚的发育属松型(图版II-12)。雌配子体直接发育成营养组织——胚乳。7月30日至9月10日为幼胚发育时期:起初原胚迅速生长,穿过颈卵器下部胞壁,进入雌配子体,随着卷曲状的胚柄伸长,颈卵器壁逐渐消失。初生细胞分裂形成幼胚。在此期间产生多胚现象,马尾松的多胚现象有2种:即简单多胚(图版II-13)和裂生多胚(图版II-14),据观察马尾松幼胚可多达11个。由于幼胚细胞分裂旺盛,于8月10日见到根原始细胞分裂分化,形成明显的柱状组织和环状组织;此时胚芽端开始形成。8月20日左右见到胚芽分化,子叶原基已在胚芽肩部突出,下胚轴有髓,胚柄被发育中的胚体所挤压,开始萎缩(图版II-15)。8月30日至9月10日胚芽长大,子叶形成。

9月20日至10月30日为胚的成熟期,在胚胎发育竞争中,原来的多个胚,最后仅有一个完全发育(图版II-16)。其它幼胚相继萎缩。此时期胚的各种结构已全部分化形成,以后主要是胚轴伸长,子叶长大。胚柄干枯残存。10月底种子完全成熟,胚直立(图版II-17),子叶4~12枚。

种子的中上部附生着乳黄或灰褐色的膜质物——种翅,纵径11~15 mm,横径5~7 mm。

### (四) 球果解剖观察

将66个成熟球果分上、中、下三个部位剥开种鳞(每球果含27~87枚种鳞)进行观测,结果见表1。

表 1 马尾松球果各部位的种鳞与结籽状况

球果部位	实 籽			瘪 籽			残 翅			空 鳞		
	变 幅	平 均 (个)	%	变 幅	平 均 (个)	%	变 幅	平 均 (个)	%	变 幅	平 均 (个)	%
上	0~13	12.2	9.6	1~15	6.8	5.4	6~24	11.5	9.1	0	0	0
中	0~12	10.8	8.5	2~27	10.8	8.5	4~26	17.4	13.7	0	0	0
下	0~2	0.2	0.2	0~4	0.9	0.7	13~63	29.3	31.0	0~24	16.8	13.3
合 计	0~13	23.2	18.3	0~27	18.5	14.6	4~63	68.2	53.8	0~24	16.8	13.3

1. 实籽 即饱满种子, 集中在球果的上、中部, 实籽率为8.5%与9.6%, 下部极少, 仅有0.2%。

2. 瘪籽 即空粒种子(有种翅和种皮、而无种仁), 多集中于球果的中部, 其次是上部, 但两部位间差别不显著, 下部仅有0.7%。

3. 残翅 即无种子仅残存种翅。残翅多产生在下部, 中部居中, 上部最少。下部极显著地高于上、中部3.4倍和2.3倍; 而中部极显著地高于上部达1.5倍。

4. 空鳞 空鳞现象均发生在球果下部, 中、上部位未曾见有空鳞存在。

### 三、总结与讨论

#### (一) 低温冻害对马尾松花粉发育的影响

1. 对发育进程的影响 根据1987~1988年两年定株观察地点的低温气象资料, 直观地分析了低温冻害对马尾松花粉粒发育进程的影响(图1)。1988年春因频繁的零下低温( $-0.5^{\circ}\text{C} \sim -3.1^{\circ}\text{C}$ ), 致使花粉母细胞形成、减数分裂、小孢子四分体与单核花粉粒等各发育阶段, 比1987年延迟20~35天, 4-细胞花粉粒形成与成熟花粉囊开裂各延迟约7天。

2. 对各发育阶段的影响 显微观察发现, 低温冻害首先使小孢子囊壁绒毡层发生早期败育(图版 I-1), 以后又导致花粉母细胞、减数分裂各期、小孢子四分体、单核花粉粒(图版 I-2)等的各种畸形与败育。当正常单核花粉粒进入三次有丝分裂时期出现“倒春寒”, 也会使成熟花粉粒败育(图版 I-3)。Eriksson等(1972)曾报道, 低温冻害导致国外松内部败育仅发生在花粉母细胞

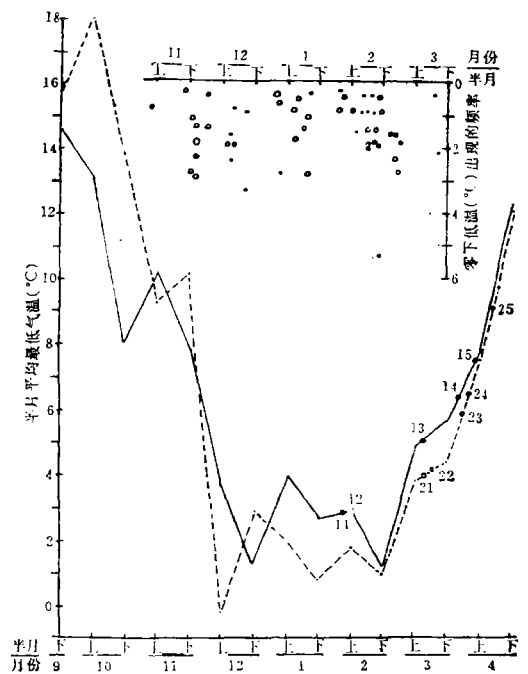


图 1 低温冻害对马尾松花粉粒发育进程的影响  
·和—— 1987年出现的低温; ○和----- 1988年出现的低温  
11(21)花粉母细胞形成 12(22)减数分裂时期 13(23)单核花粉粒形成 14(24)4-细胞花粉粒形成 15(25)散粉结束

减数分裂时期，我们的研究结果认为不仅如此，在花粉母细胞减数分裂前后的各发育阶段，都可能因低温冻害引起败育。

3. 对花粉粒生活力的影响 通过离体花粉发芽率的测定，受冻害年份的花粉发芽率为34.7%，比正常年份的花粉发芽率(85%)要低1.45倍。冻害年份花粉发芽率降低极为明显。

**(二) 马尾松雌球花的有效授粉期**

从珠孔形成过程观察得知，有效授粉期与珠孔闭合时间是有关系的。授粉期间珠孔壁有4~5层细胞，珠孔闭合时，珠孔两侧(即珠心游离端上面附近的珠被)的中间2~3层细胞以垂直于珠孔壁方向伸长，形成突起，使珠孔两侧内壁相接，珠孔道关闭，这时近珠心内壁的1层和外壁的1层细胞不伸长。从珠孔开放到闭合一般需要5天，也就是雄球花散粉的头5天与雌球花珠鳞展开的头5天，在这短促的时间里授粉效果好。

**(三) 马尾松有性生殖过程的时间顺序**

自然条件下马尾松的有性生殖过程较长，前后跨越三个年头，现将发育全过程的时间顺序列于表2。马尾松球果有两次明显的生长：第一次是在当年授粉后的5~6月份，由雌球花转变成淡黄褐色小球果，果长约为成熟球果的1/5(未授粉雌球花在此期间枯萎凋落)；第二次是次年的4~7月间，此时球果转绿，在上年基础上球果增长很快，受精后球果长度约为成熟球果的2/5~5/5，未受精球果在此期间脱落。两次缓慢或停止生长是在授粉后至第二年3月份以及受精后的8~10月份。

**表2 马尾松有性生殖过程各发育阶段的时间顺序**

年份	1986									
月·日	10·5~2·5	2·9~2·13	2·13~2·28	3·2~3·8	3·16~3·31	3·31~4·5	4·6~4·20	4·11~4·17	4·13~4·24	4·27~5·6
发育阶段	造孢细胞正常有丝分裂	花粉母细胞	花粉母细胞减数分裂	小孢子四分体	单核花粉粒的有丝分裂	4细胞花粉粒	花粉囊开裂	花粉粒开始落在珠心上	大量花粉落在珠心上	花粉粒开始萌发
♀					珠鳞形成	珠被、珠心分化	大孢子母细胞	大孢子母细胞减数分裂	具功能大孢子	
年份	1987									
月·日	4·30~5·10	5·11~12·31	1·1~5·10	5·15~6·10	6·20~6·30	6·30~7·30	7·30~9·10	9·20~10·30		
发育阶段	花粉管长入珠心	花粉管在珠心中生长	精原细胞分裂为2精子,6细胞雄配子体成熟	花粉管进入雌配子体	精子+卵→原胚。雌配子体继续发育(胚乳)	雌配子体全部细胞化。颈卵器卵细胞形成	幼胚阶段	成熟胚阶段		
♀	雌配子体游离核时期									

**(四) 球果不同部位种子质量的差异**

据统计，马尾松球果果实籽率平均为18.3%，饱满种子集中于球果的中、上部，瘪籽率为

14.6%，主要分布在球果的上、中部；残翅率占53.8%，无种子而仅存残翅的在各部位都有；空鳞率占13.3%，全在球果的下部。

### (五) 关于种翅之起源

有些研究认为种翅来源于外种皮的延伸部分<sup>[6]</sup>，但 Sponne (1965) 认为：“种子的翅是由邻近胚珠的珠鳞近轴面的一部分分离形成，因此，在形态学上它不是种子本身的一部分”<sup>[6]</sup>。我们的观察结果也是与其相一致的。剥开授粉后达12个月之久的珠鳞(种鳞)，已看到其腹面的中、下部有白色膜状物出现(即种翅)，此时为雌配子体游离核时期。经30天左右，种翅向上伸长，形成发育良好的种翅。我们又观察到：种翅的发育与胚珠的发育无相关关系，即使珠被、珠心严重萎缩和雌配子体全部败育(图版 I-7)，形成瘪籽，种翅仍可发育完好。

### 参 考 文 献

- [1] 肖德兴, 1985, 马尾松小孢子发生和小孢子发育的细胞学观察, 江西农业大学学报, (2): 57~59。
- [2] 蒋辉等, 1966, 松属花粉的形态特征及其意义, 武汉植物学研究, 4(1): 17~25。
- [3] 王培蒂, 1989, 马尾松雌雄球花形态发育, 林业科学研究, 2(4): 329~333。
- [4] 林德光, 1982, 生物统计的数学原理, 辽宁人民出版社, 93~98。
- [5] 中国科学院植物研究所形态细胞研究室比较形态组, 1978, 松树形态结构与发育, 科学出版社, 22~25, 103。
- [6] [美] A. S. 福斯特等, 1983, 维管植物比较形态学, 科学出版社, 416。
- [7] [英] R. 福克纳, 1975(徐燕千译, 1981), 林木种子园, 中国林业出版社, 115~116, 126~127。
- [8] [美] Laser 等, 1972, 被子植物小孢子发生中的细胞质雌性不育的解剖学和细胞学, 植物学评论, 35(3): 425~454。

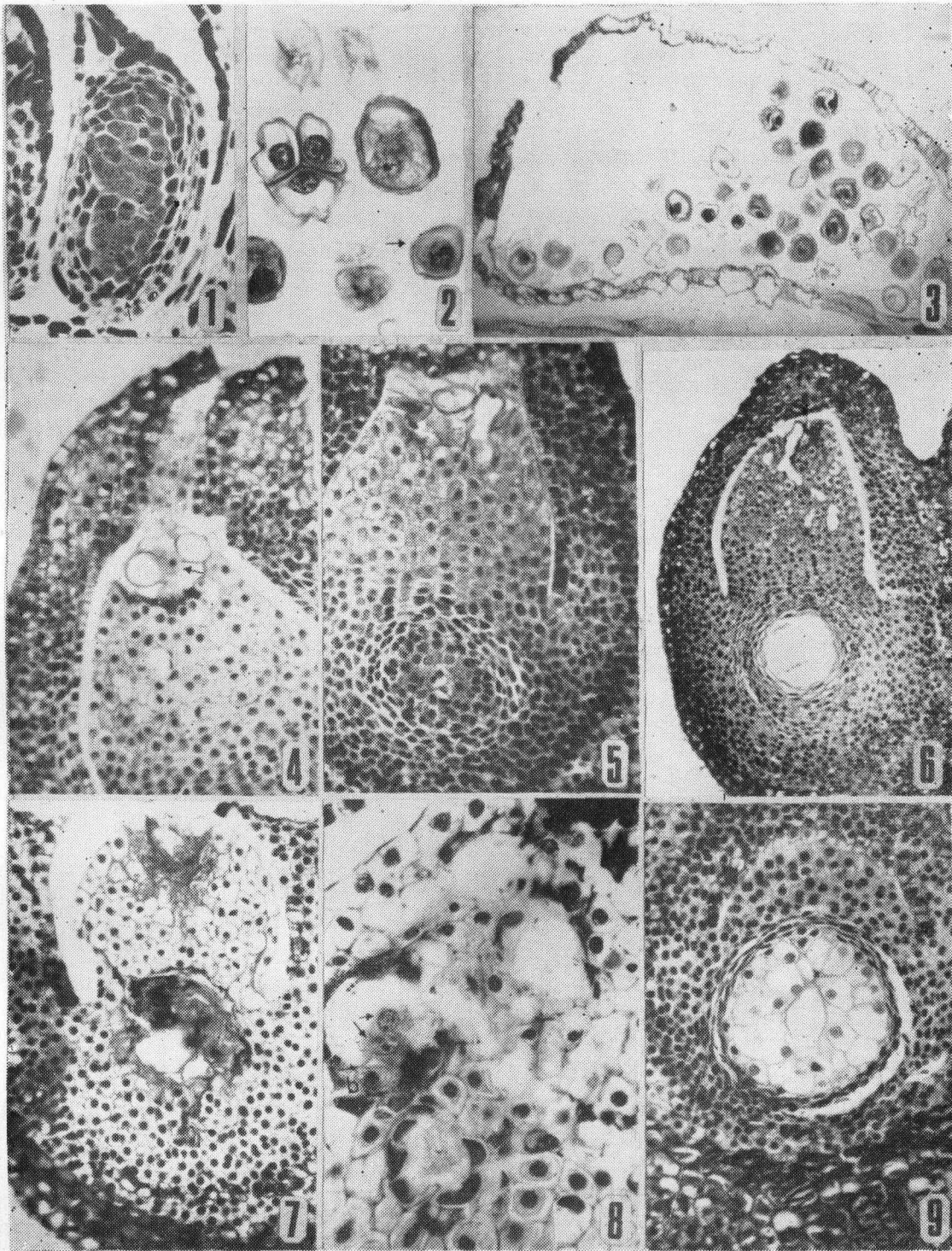
## OBSERVATION ON EMBRYO DEVELOPMENT OF MASSON PINE

Wang Beidi    Qin Guofeng

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

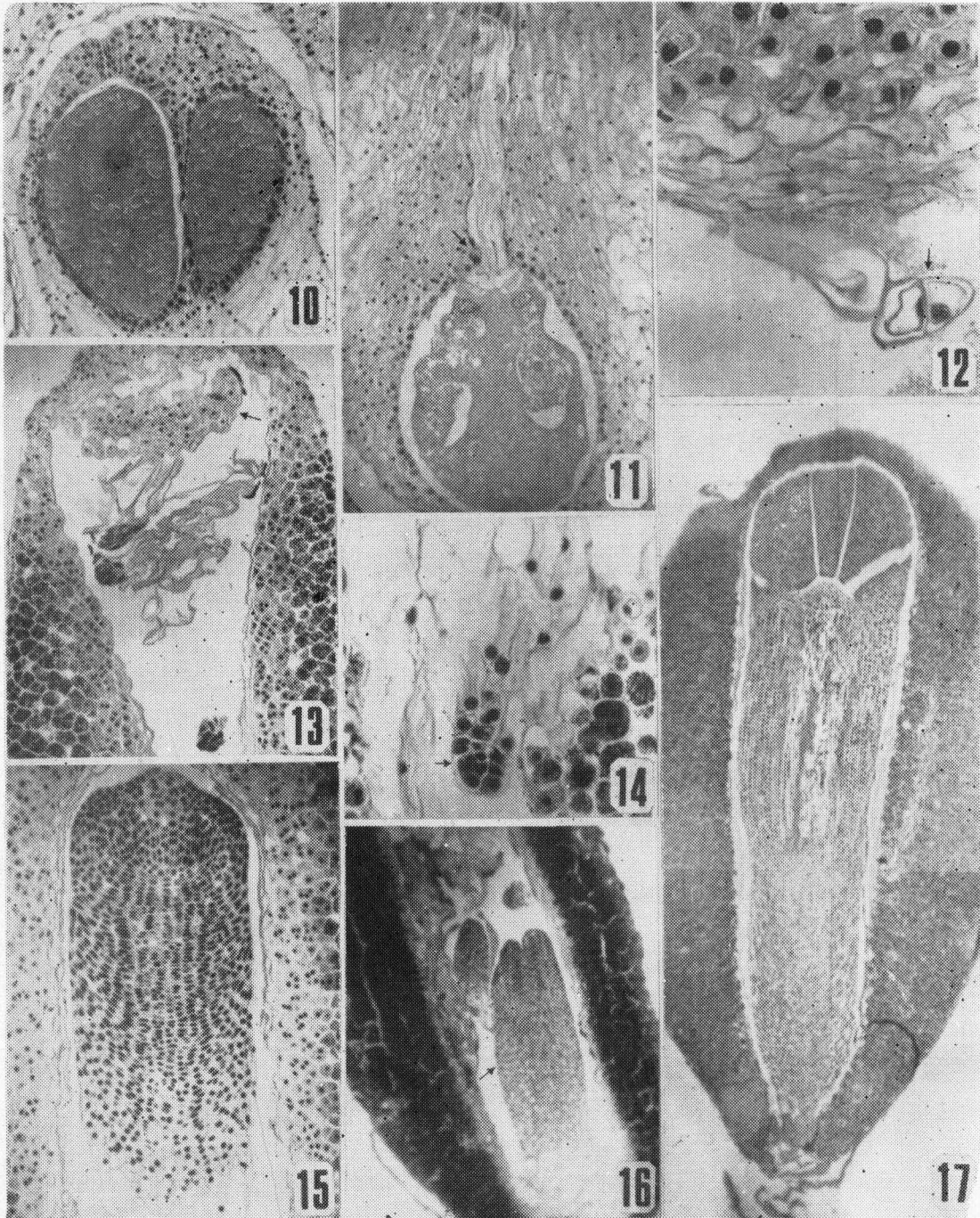
**Abstract** Under natural condition, the development of a mature pollen took 6 months to complete. The first five days after ovuliferous scale open were of efficiency for pollination. The phase of free nuclei of female gametophyte lasted for 12 months, and it took about 7 days to develop from nuclei phase to cell phase. There were two or three archegoniums in Masson Pine. The fertilization took place in the 13th month after pollination. The development phase of proembryo was about 30 days, young embryo 40 days and mature embryo 60 days. The production of mature seeds needed 24 months to go since the differentiation of floral buds. According to the observation on morphological development, we found that there usually were unnormal pollens and pollen sterility in every developing stage because of low temperature and freezing.

**Key words** Masson Pine; embryo development; pollen sterility; low temperature



1. 孢原组织时期，示败育的绒毡层细胞(→)，201×； 2. 示互相粘连的单核花粉粒；互相粘连的无气囊花粉粒(→)及本体完全萎缩的花粉粒，363×； 3. 示花粉囊壁开裂处的败育细胞和败育花粉粒，403×； 4. 落在花粉室内的花粉粒及其萌发的花粉管，示管核(→)，202×； 5. 示长入珠心内的花粉管，101×； 6. 珠心内生长的花粉管及游离核时期的雌配子体，101×； 7. 示萎缩的珠被，败育的游离核时期的雌配子体，202×； 8. 示成熟雄配子体内的2个精子(→)及管核(⌞)，101×； 9. 细胞化的雌配子体及解体的海绵组织，202×。





10. 雌配子体内的 2 个颈卵器，示其中一个形成卵细胞，184×；11. 到达颈卵器的花粉管(→)，40×；12. 原胚；示初生胚细胞层(→)和胚柄层，101×；13. 示多胚时期的幼胚和胚柄及雌配子体部分(→)，92×；14. 示裂生多胚(→)，101×；15. 后胚早期；胚芽分化，子叶原基形成，106×；16. 示竞争中的优势胚(→)，50×；17. 成熟种子纵切面，示发育完全的胚和胚乳，43×。