

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 200226042

UDC_____

厦 门 大 学
硕 士 学 位 论 文

中国水仙的胚胎学观察及不育
机理的研究

Embryological Studies on Chinese Narcissus
(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) and the
mechanism of its sterility

武 剑

指导教师姓名: 田 惠 桥 教授

专 业 名 称: 发 育 生 物 学

论文提交日期: 2005 年 5 月

论文答辩日期: 2005 年 6 月

学位授予日期: 2005 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2005 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确的方式标明。本人完全意识到本声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者签名：

日期： 年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目录

中文摘要	I
英文摘要	III
第一章 前言	1
1 被子植物的有性生殖	1
2 高等植物雄性不育的研究	1
3 高等植物雌性不育的研究	2
4 花药结构与功能	5
4.1 药隔维管束	5
4.2 药壁表皮、内壁和中层	6
4.3 绒毡层	6
4.4 花粉发育	7
5 雌配子体发育	9
5.1 雌配子的研究进展	9
5.2 大孢子母细胞	10
5.3 功能大孢子的决定	11
5.4 雌配子体发生和细胞质的成熟	13
5.5 胚囊的细胞化	14
6 不亲和性与花粉花柱的相互作用	17
7 中国水仙研究	18
7.1 名称、品种	18
7.2 形态特征	19
7.3 研究进展	20

第二章 材料与方 法	22
1 材料	22
2 方法	23
第三章 结果与分析	27
1 核型分析	27
2 小孢子发生和雄配子体发育	29
3 花粉粒的育性	34
4 大孢子发生和雌配子体发育	35
第四章 讨论	37
1 中国水仙核型及起源	37
2 中国水仙雄配子发育与不育	37
3 中国水仙大孢子发生和雌配子发育	41
4 中国水仙雌配子体发育与不育	43
5 中国水仙雌雄配子体识别与不育	44
参考文献	46
图版及图版说明	59
致谢	77

CONTENTS

Abstract (in Chinese)	I
Abstract (in English)	III
Chapter 1 INTRODUCTION	1
1. Sexual reproduction of Angiosperm	1
2. Developments of Male Sterility in higher plants.....	1
3. Developments of Female Sterility in higher plants.....	2
4. Structure and function of anther	5
4.1 Vascular bundle in the connective of anthers	5
4.2 Epidermis, endothecium, middle layer	6
4.3 Tapetum	6
4.4 The development of microspores	7
5 The development of megaspores.....	9
5.1 Researches on megaspores.....	9
5.2 Megaspore mother cell.....	10
5.3 Decision of functional megaspore	11
5.4 Megasporogenesis and maturation of cytoplasm.....	13
5.5 Cellularization of embryo sac	14
6 Incompatibility, recognizability of pollen grains and styles.....	17
7 Studies on Chinese Narcissus.....	18
7.1 Names and varieties	18
7.2 Morphological characteristics.....	19
7.3 Research on Chinese narcissus	20

Chapter 2 MATERIALS and METHODS	22
1 Material.....	22
2 Methods.....	23
Chapter 3 RESULTS and ANALYSIS	27
1 Karyotype study on Chinese Narcissus.....	27
2 Microsporogenesis and male gametophyte.....	29
3 Fertility of pollen grains	34
4 Megasporogenesis and female gametophyte.....	35
Chapter 4 DISCUSSIONS	37
1. Origin and karyotype of Chinese narcissus.....	37
2. Male gametophyte and sterility.....	37
3. Megasporogenesis and female gametophyte.....	41
4. Female gametophyte and sterility.....	43
5. Gamete interactions and sterility	44
REFERENCES	46
FIGURES and EXPLANATIONS of FIGURES	59
THANKS	77

摘 要

中国水仙 (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) 是中国传统的观赏花卉。由于中国水仙只开花不结实, 以鳞茎球营养繁殖。本实验通过细胞学的方法, 对中国水仙大、小孢子发生, 雌、雄配子体发育过程进行研究, 探讨导致水仙有性生殖失败的原因, 为今后改良中国水仙提供帮助。同时通过中国水仙核型分析的研究, 证实中国水仙是同源三倍体植物, 染色体基数 $X = 10$ 。

中国水仙的花药壁为四层, 绒毡层为分泌型绒毡层。在花芽发育过程中, 减数分裂前的小孢子母细胞发育显示正常, 并表现出高度的一致性。小孢子母细胞细胞质分裂为连续型。小孢子四分体主要呈左右对称型。

小孢子母细胞在减数分裂期, 存在许多异常现象。减数分裂中期, 多数染色体排列在赤道板上, 但一些染色体散布于赤道板外。在减数分裂后期和末期中, 存在染色体片段、染色体桥、落后染色体、不均等分裂和多孢子 (5 或 6 个小孢子) 等异常现象。染色体片段大小和形状在不同的细胞中存在不同, 有的甚至可以达到一个染色体臂的长度。

四分体时期后, 多数小孢子的发育不正常, 导致最后的败育。大部分小孢子呈空瘪状态, 少部分小孢子含有饱满的细胞质。约 27% 的花粉可发育成比较正常的二胞花粉 (具一个月牙型的生殖细胞核和一个松散的营养细胞核)。离体萌发实验中, 1.34% 花粉可萌发出花粉管, 但在人工授粉后的花柱柱头上未观察到花粉粒的萌发。

雌蕊由三心皮构成 3 室子房, 中轴胎座, 其上着生了 60-90 个胚珠。胚珠倒生, 双珠被, 薄珠心。胚囊发生属于单孢子型,

但大多数胚囊发育中途失败，只有约 4%的胚囊可发育成 7 胞 8 核的蓼型胚囊。中国水仙雌、雄配子体发育异常是其只开花不结实的主要原因。同时，中国水仙花粉粒不能在柱头萌发是另一原因。

关键词：中国水仙；胚胎学研究；大小孢子发生；雌雄配子体发育

Abstract

Chinese Narcissus (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) has been a favorite ornamental plant in China for several hundreds years. Since the plant blooms and has no seeds, its propagation depends on vegetative propagation. Embryological studies on Chinese Narcissus (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*.) were conducted to discover the causes of sterility. Microsporogenesis, megasporogenesis, male and female gametogenesis were cytologically analyzed. Based on the karyotype study, Chinese Narcissus was demonstrated to be an autotriploid with a basic set of 10 chromosomes, each represented three times.

The anther wall is composed of four layers and its tapetum is of the secretory type. The microspore mother cells were cytologically normal and highly synchronized. The cytokinesis in microspore mother cells is of the successive type and the arrangement of the microspores in tetrad is tetrahedral.

At the metaphase, the chromosomes of most pollen mother cells gathered on the plates, while in some of the cells several chromosomes scattered outside the plates. Chromosome fragmentations, chromosome bridges, lagging chromosomes, unequal distribution of chromosomes and polyads(5,6 microspores) were observed in pollen at anaphase and telophase stages of the pollen miosis. The acentric fragments differed in size and shape. Some fragments were as large as

whole chromosome arms.

The subsequent course of meiosis was also not normal and result in sterility. After meiosis, as most microspores aborted and cytoplasm decreased, only 27.7% of pollens could develop with fully cytoplasm, indicating high male sterility. Mature pollen grains had a characteristic crescent-shaped sperm nucleus and a decondensed vegetative nucleus. Among the mature pollen grains, only 1.3% of them could germinate in the medium. None of pollen grains, however, could germinate on stigma in vivo, so no pollen tube was found in the style.

The ovary is trilocular with axile placentation and the ovules are anatropous, bitegminous and tenuinucellatae. After meiosis of the megaspore mother cell, the chalazal megaspore develops into a polygonum type embryo sac. Most embryo sacs, however, degenerated after the aberrant meiosis of megaspore mother cells. Only about 4.5% of megaspore mother cells could produce normal embryo sacs, each of which had one egg cell, two synergids, three antipodal cells and one central cell containing two polar nuclei. Some of the abnormal embryo sacs were hollow and some of them had over four nuclei in the center.

One reason of the sterility of Chinese Narcissus is that Chinese Narcissus is an autotriploid, which leads to the abnormality of male and female gametogenesis. The statistic data showed the aberrant meiosis matched the abortive pollen grains proportion well, indicating

that there were some cytological factors companied with the high pollen sterility. Another reason is that the pollens can not germinate on the stigma and no pollen tubes can grow into style.

Keyword: Chinese Narcissus; Embryology; Male and female gametophyte;

Microsporogenesis; Megasporogenesis

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 前言

1. 被子植物的有性生殖

在被子植物中，体内受精过程不仅有性细胞本身而且还有配子体其他成员的直接参与。近来活体动态观察及解剖学特别是超微结构研究表明，被子植物体内作为雌雄配子体的胚囊和花粉发育成熟之后，经授粉，花粉管经过柱头沿花柱生长穿过珠心进入一个退化的助细胞，管端破裂释放一对精细胞。一个精细胞与卵细胞结合，融合后发育成胚，另一个精细胞与中央细胞结合，融合后发育成胚乳。通过这种方式使配子体中雄性生殖单位(营养核和两个精细胞)和雌性生殖单位(助细胞，中央细胞和卵细胞)参与双受精过程。

2. 高等植物雄性不育的研究

被子植物从雄蕊原基分化开始到形成有功能的成熟花粉粒的雄蕊发育时期经历了一系列剧烈的生理生化、形态结构方面的变化。如果这些变化过程中的任一环节发生异常，雄性器官就不能正常发育，最终导致不能形成有生活力的花粉，即雄性不育。雄性不育在高等植物中是一种十分普遍的现象。据 Kaul^[1]统计，已在 43 个科 162 个属 320 种植物中发现雄性不育现象。雄性不育和雄性可育两个对应性状属于遗传因素与生境互作控制的一类发育性状。可将植物雄性不育分为：1、可遗传的雄性不育，包括细胞核雄性不育(NMS)和细胞质-核互作雄性不育(CMS)；2、生理性雄性不育；3、具有特定基因型需要在特定条件下才能表达雄性不育的生境敏感雄性不育类型^[2]。

对雄性不育进行研究，在理论上可以丰富花粉发育、细胞质遗传和核质互作等方面的知识，在实践上可以作为一种遗传工具，

减少人工去雄的麻烦，在作物杂种优势利用、品种改良中有重要的应用价值。因此，有关雄性不育的研究在过去近一个世纪的时间里，尤其是近三十年来一直是一个热门课题，倍受生物学家和农学家的重视。

至今，在许多雄性不育的应用方面已经取得了巨大的成就。许多雄性不育作物已在人类生活和生产中发挥着重要的作用。例如：油菜 (*Brassica Napus*)、向日葵 (*Helianthus annuus*)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)、水稻 (*Oryza sativa*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、高粱 (*Sorghum bicolor*)、玉米 (*Zea mays*)。

在开展利用植物雄性不育创造杂种优势的同时也做了一些有关植物雄性不育的基础理论工作。Laser 等^[3]总结了被子植物雄性不育花粉败育的形式和时期。利容千^[4]对玉米、小麦、水稻和高粱等作物雄性不育的花药发育过程也作过描述。花药的发育是一个复杂的过程，包括许多相互影响的因子，除了受基因调控外，多糖、蛋白质、脂类等物质代谢过程对花药的发育也极为重要^[5]。Tian 等^[6]发现光敏核不育水稻花药发育过程中，不育花药绒毡层细胞形成了一层特殊的细胞壁阻碍了钙向花药室的流入而使花粉败育。孟祥红等^[7]在光敏胞质不育小麦中也发现钙与花粉育性密切相关。这些研究为揭示高等植物雄性不育机理打下了基础。

3. 高等植物雌性不育的研究

植物的雌性不育通常是由雌性器官的发育异常而引起的，而正常植物的雌性器官发育主要指子房的发育(包括胚珠发育和胚囊形成)。如果雌性器官中胚珠或卵细胞发育受阻或败育，就表现出植物雌性不育现象(包括隐性和显性雌性不育)。

最常见的是大孢子母细胞减数分裂不正常，不能形成功能性大

孢子。Rim^[8]研究了豆科百脉根属两个种的体细胞杂交后代发育情况，发现由于大孢子母细胞减数分裂后期发生异常，不能形成四个大孢子。Kazimierska 等^[9]用豆科属的两种植物进行杂交，发现不育和可育的后代比例约为 3:1，表明这种杂交后代的不育性是由一对等位基因控制的。在不育后代中，从珠心切片中看到的大孢子母细胞很少，这些大孢子母细胞会液泡化或在减数分裂前死亡。

有些雌蕊胚珠内的大孢子母细胞虽然可以完成减数分裂，但形成的功能性大孢子却不能正常进行有丝分裂，因此，无法产生成熟的 8 核胚囊。Lillec-rapp 等^[10]在杏的一个品种 ‘Trevatt’ 中发现有 50%的胚珠只能发育到功能性大孢子时期、2 核胚囊期或 4 核胚囊期，另有 50%的胚珠中胚囊退化或消失。Ouyang 等^[11]发现杂交水稻中有高度不育的 F₁ 代，虽然可以形成功能性大孢子但在随后的发育过程中大孢子退化导致不能形成成熟胚囊。

还有一些情况是，胚囊虽然可以发育成熟，但受粉后胚珠发育异常，导致最终不能形成种子。胚珠作为胚囊的携带者，是种子的前身，在植物的生殖过程中起重要作用。许多胚珠发育异常的突变体都表现为育性降低。Martinis 等^[12]发现转基因烟草中胚珠的发育停滞，且含有大量胼胝质，虽然可以授粉，但却不能正常引导花粉管伸向珠孔。Kazimierska 等^[9]发现两种羽扇豆属植物杂交的不育后代中，在 8 核胚囊期其珠心组织出现异常的极性，虽然有些胚囊完成了受精过程，但形成的胚细胞会液泡化而死亡。

由于雌蕊结构及雌配子体发育的复杂性，植物的雌性不育机制的研究报道较少。Pereira 等^[13]，Rheenen^[14]和 Palmer^[15]在豆科不育品系中发现了双因子雌性不育和部分雌性不育突变基因。而

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库