

山桐子花芽分化及雌雄配子体发育

杨秀平, 岁立云, 王淑惠

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:利用常规石蜡切片技术对山桐子花芽分化与配子体的发育过程进行研究。结果表明,山桐子花芽分化可划分为6个时期:花芽未分化期、花芽分化初期、花序轴分化期、花序分化期、花器官分化期、雌雄蕊形成期。山桐子的花芽分化始于8月下旬,在形成花序轴原基之后进入休眠期。花药壁由表皮、药室内壁、中层(2~3层)、绒毡层组成。小孢子母细胞经过减数分裂形成四分体,四分体为四面体结构,成熟花粉为2—细胞型。子房1室,多胚珠;胚珠倒生;双珠被,厚珠心;大孢子四分体为直线型,合点端大孢子发育成功能大孢子,胚囊发育为蓼型。

关键词:山桐子;花芽分化;小孢子发生;大孢子发生;雄配子体;雌配子体

中图分类号:S722.34 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2016)06-0126-07

Flower Bud Differentiation and Development of Male and Female Gametophytes in *Idesia polycarpa*

YANG Xiu-ping, SUI Li-yun, WANG Shu-hui

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The paraffin section method was used to observe the process of flower bud differentiation and gametophyte development of *Idesia polycarpa*. The results showed that the floral bud differentiation could be divided into six stages: before floral bud differentiation stage, initial floral bud differentiation stage, rachis differentiation stage, inflorescence differentiation stage, floral organ differentiation stage, and floral organ formative stage. Floral bud differentiation started in August and ended when rachis primordium developed. The consistent of wall of anther were epidermis, endothecium, two or three middle layers and tapetum from surface to inside. Cytokinesis in the microsporocyte meiosis was of the continuous type. Microsporocyte tetrads were tetrahedral. Mature pollen grains were 2-celled. The ovary was one locular. Ovules were anatropous, bitegminous and crassinucellate. The meiosis of megaspore mother cell was normal. The megaspore tetrad was linear, but only the megaspore near the chalazal last remained. The formation of embryo sac was polygonum type.

Key words: *Idesia polycarpa*; flower bud differentiation; microsporogenesis; megasporogenesis; male gametophyte; female gametophyte

山桐子 (*Idesia polycarpa*) 为大风子科山桐子属落叶乔木, 主要分布于东亚, 主产于中国、日本、朝鲜和俄罗斯远东地区。在我国主要分布于浙江、湖南、陕西、甘肃、四川、安徽、江西、云南等省的海拔300~1 200 m 山坡、山谷两侧的疏林或林缘^[1]。山

桐子雌雄异株, 树形美观, 圆锥状花序下垂, 花黄色, 果实红艳夺目, 是我国南方主要城市园林绿化数种之一; 果实产量及含油率极高, 是一种优良的木本油料树种, 其所含复合型维生素和不饱和脂肪酸对高心血症和心血管疾病具有预防作用^[2]。

研究花芽分化的规律、雌雄配子体发育的过程是调控花期、保证开花质量以及开展花期育种的基础^[3-4]。目前对山桐子的研究主要集中在野外种质资源调查、繁殖技术及生产应用等方面^[5-8],对山桐子生殖生物学的研究国内外尚无报道。由于花芽分化对植物开花的数量、质量以及坐果率都有直接影响,进而影响果实、种子产量,因此,本试验对山桐子花芽分化及雌雄配子体发育过程初步探究,以期对山桐子的花期调控、果实生产以及花期杂交育种提供理论依据。

1 材料与方法

试验材料取自西北农林科技大学(陕西,杨陵)校园内约20年生山桐子雌、雄树。自2007年6月开始采集山桐子雌、雄株顶芽,6—10月每隔10 d采样1次,11月、12月及2008年1月每隔20 d,2月每隔10 d,3月每隔3 d,4—6月份每隔5 d,每次采样10个并固定。在雌雄配子体形成期,2008年4月中旬至5月底开花期前1个月至花后10 d,采集各种大小的雌、雄花蕾,每隔2 d采样1次,每次30个花蕾。

材料用FAA固定液固定,70%(体积比)乙醇保存,采用常规石蜡切片法制片,番红—固绿双重染色,部分材料用爱氏苏木精整体染色,切片厚度6~15 μm ,中性树胶封片,OLYMPUS显微镜(奥林巴斯(中国)有限公司)下观察并照相^[9]。

2 结果与分析

2.1 山桐子花芽分化过程

根据石蜡切片观察结果,山桐子花芽分化可分为6个阶段:花芽未分化期、花芽分化初期、花序轴原基分化期、花序原基分化期、花器官原基分化期、雄雌蕊形成期。

2.1.1 花芽未分化期 8月下旬前属于芽的营养生长期,茎端生长点尖而狭小,其原分生组织的细胞体积小,形状相似,排列整齐;茎端生长锥平滑,生长锥周缘有叶原基分化或未分化叶原基(图1①a、①b)。

2.1.2 花芽分化初期 8月下旬,花芽进入分化初期,此时生长锥肥大且显著伸长,宽度与厚度同时增加,顶端生长锥逐渐变阔圆,最终呈扁平状,此突起即为花芽开始分化的标志(图1②a)。

2.1.3 花序轴原基分化期 9月上旬,花序分生组织形成,生长点侧面及基部是周围分生组织,基部的分生组织对以后花序的形成和伸长有重要作用。从切片中观察到生长点继续膨大、增长,隆起形成花序

轴原基(图1③a、③b),此后花序轴原基进入休眠期。

2.1.4 花序原基分化期 第2年3月中下旬,休眠芽开始萌动后,在花序轴原基顶部中央及其下部出现多个小突起,即为花序原基(图1④a~④c)。随后,中央顶端突起逐渐变宽变平,形成圆锥花序的顶花原基,外侧的突起形成花序中其他的侧花原基。花序原基基部细胞不断分裂,逐渐凸起形成椭圆形。此时,山桐子的圆锥花序已现雏形(图1④d)。

2.1.5 花器官原基分化期 4月初,花序原基继续生长,逐渐分化形成花器官原基(萼片、雄蕊、雌蕊)。首先是花蕾两侧外端出现2个突起,即为萼片原基(图1⑤a),苞片原基经过平周和垂周分裂增加厚度和长度。之后在花蕾内侧周缘和中心出现很多颗粒状的突起,分别为雄蕊原基和雌蕊原基(图1⑤b~⑤e)。

2.1.6 雄、雌蕊形成期 从4月初开始至4月20日,花芽继续增大,雄蕊原基延伸,端部稍大,雌蕊心皮原基相应伸长。后期雄蕊可以辨清花药和花丝。雌蕊出现柱头、花柱和子房(图1⑥a~⑥b),并在子房内部形成多个小突起即胚珠原基。

2.2 山桐子花芽发育的外部形态特点

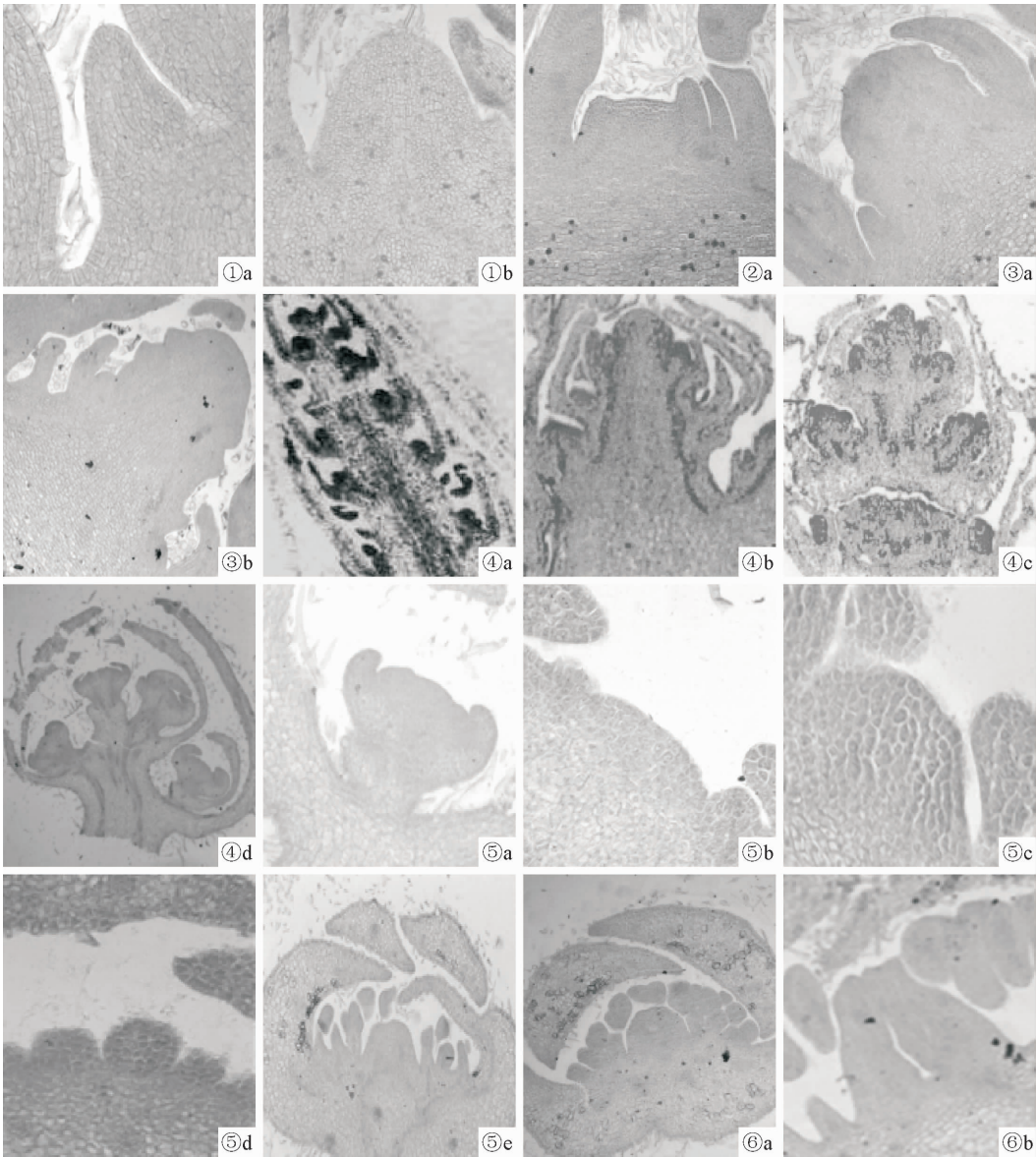
花芽未分化时,芽体瘦小,外有褐色苞片包裹。8月下旬花芽开始分化后,芽体基部膨大,苞片顶尖松开,开始出现花序轴原始体突起(9月上旬),之后逐渐进入休眠期。翌年3月中下旬,芽体伸长,褐色苞片松开,露出内部绿色的鳞片叶,鳞片叶腋间也出现花序轴原基突起,此即花序的分枝,剥开鳞片叶可以看见花序雏形。鳞片叶散开后,花序分枝露出鳞片外(4月初),第一分枝、第二分枝继续分化伸长,鳞片叶脱落,在第二分枝上或第三分枝上产生由1~3个小花组成的花序,花序原基分化并形成花器官(萼片、雄蕊、雌蕊)。

2.3 配子体发育过程

4月20日至5月初为山桐子配子体发育阶段。山桐子为雌雄异株植物,其雄配子体和雌配子体分别单独发育。

2.3.1 雄配子体发育过程

2.3.1.1 花药壁的发育 山桐子的花药具4个小孢子囊,最外层为一层表皮细胞。4个角隅处的细胞分裂很快,形成4个瓣裂,后期发育成4个花粉囊。每个瓣裂表皮细胞内分化出孢原细胞(图2①a、①b),孢原细胞进行一次平周分裂,形成周缘细胞和初生造孢细胞(图2②a)。周缘细胞进行一次平周分裂形成两层壁细胞,再各自进行一次平周分裂,形成4层细胞(图2③a、③b)。此4层细胞中的有



注：①a~①b：未分化期；②a：分化始期；③a~③b：花序轴分化期；④a~④d：花序分化期；⑤a~⑤e：花器官分化期；⑥a~⑥b：雌雄蕊形成期。

图 1 山桐子花芽分化过程

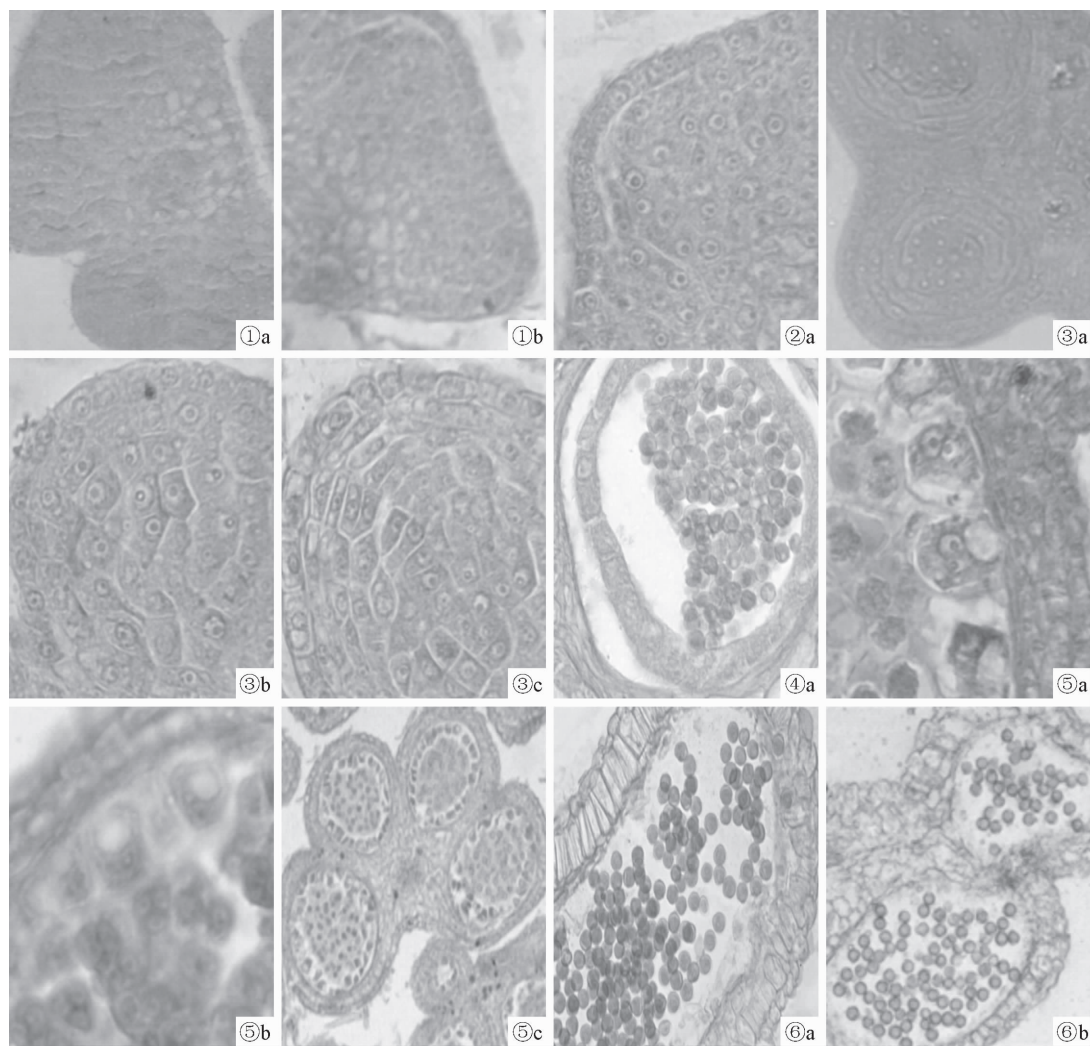
Fig. 1 Floral bud differentiation of *I. polycarpa*

些细胞还能进行一次平周分裂，形成 5 层细胞。这样，花药壁由外向内依次为表皮，药室内壁（1 层），中层（2~3 层），绒毡层（1 层）（图 2③c）。中层细胞初期体积较小，之后细胞逐渐变大，但随后在花粉粒发育过程中被吸收，然后解体消失（图 2④a）；最初的绒毡层细胞具单核，之后进行细胞内核分裂，但多不出现胞质分裂现象，成为 2 核细胞（图 2⑤a），在小孢子分化成花粉过程中，绒毡层细胞开始解体，到最后花粉发育完全成熟，绒毡层细胞已经完全解离（图 2⑤b、⑤c）。在花药成熟以后，同侧小孢子囊相通，并在相通处开裂，此时花药壁只剩下表皮和药室内壁（纤维层）（图 2⑥a、⑥b）。

2. 3. 1. 2 小孢子的发生 在孢原细胞形成初生造孢细胞后进行多次有丝分裂形成次生造孢细胞，当

花药壁发育形成绒毡层时，次生造孢细胞发育成小孢子母细胞（图 3①a、①b）。小孢子母细胞继续发育，之后进行减数分裂，经过第一次分裂形成 2 分体（图 3①c），之后细胞进行第二次减数分裂，细胞内形成 4 个细胞核，经胞质分裂，最后形成四分体。四分体为四面体型，同一切片上只能看见其中的 3 个细胞核（图 3①d）。四分体外面被胼胝质壁包裹，小孢子母细胞减数分裂过程中的胞质分裂为同时型。

2. 3. 1. 3 雄配子体发育 四分体发育后期，四分体的胼胝质逐渐溶解，4 个小孢子分开（图 3②a），刚释放出来的小孢子细胞壁较薄，细胞核位于中央，无明显液泡，细胞处于皱缩状态。之后细胞壁开始加厚，核仁明显，出现液泡，成为单核花粉体（图 3②b、②c）。随后单核花粉体体积迅速增加，出现中央大液



注:①a~①b:花药壁形成初期;②a:花药壁未分层;③a~③c:发育成熟花药壁,示分层结构;④a:中层解体消失;⑤a~⑤c:二核绒毡层及绒毡层解体;⑥a~⑥b:发育后期花药壁,示表皮和纤维层。

图 2 山桐子花药的发育特征

Fig. 2 Developmental features of anther of *I. polycarpa*

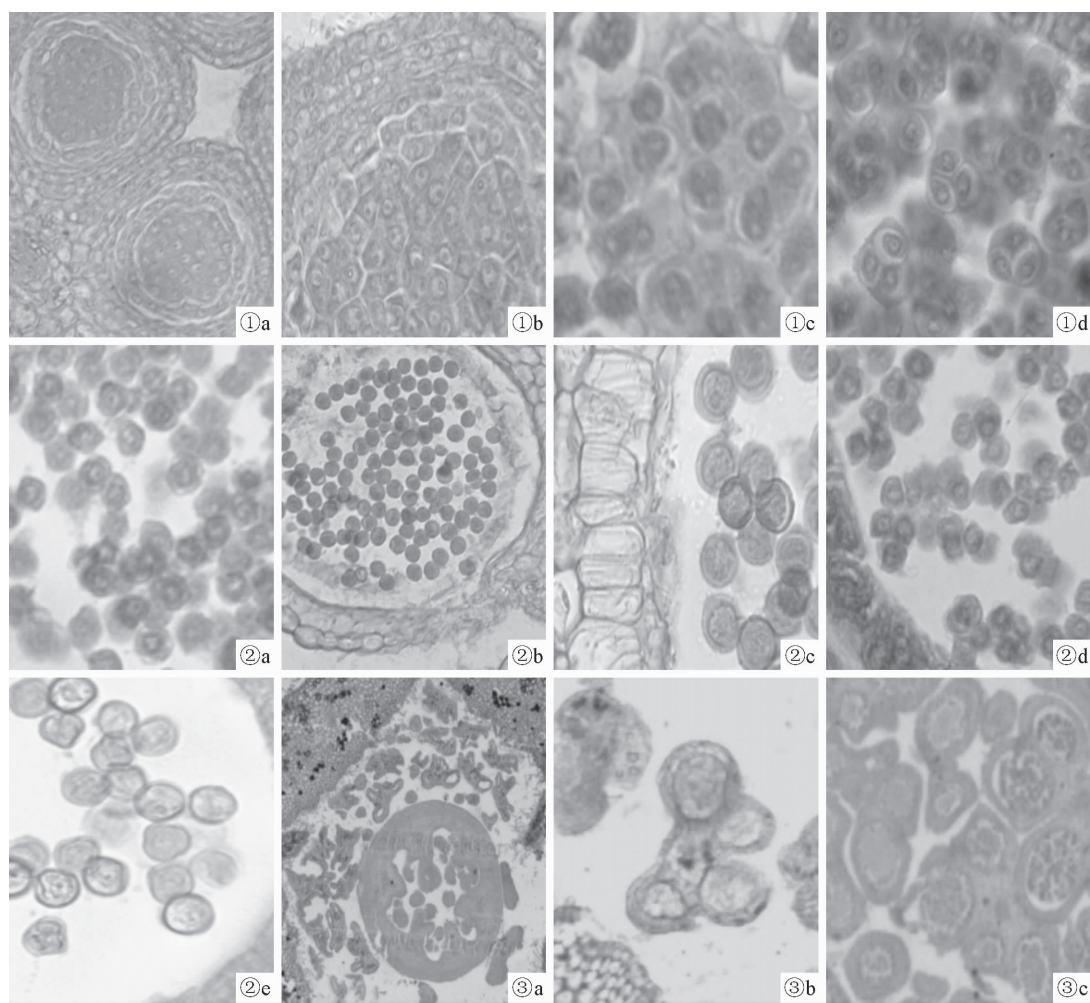
泡,将细胞核推至一侧,成为单核靠边期花粉粒(图 3②d)。随后小孢子核进行有丝分裂,形成大小不等的二细胞花粉,在散粉之前,生殖细胞不发生有丝分裂,从而形成二细胞花粉。在花粉粒内存在有 2 个子核:生殖核和营养核,生殖核较小,贴近花粉壁;营养核较大,向着中央大液泡(图 3②e)。

山桐子在雌花发育早期,雌花内有多数类似雄蕊的器官发育,但其发育时间较雄花内的雄蕊晚 2~3 d。雌花中这种雄蕊发育过程与雄花中相同,但在形成四分体之前发育停止,之后解体,不能形成花粉粒(图 3③a、③b),药室内形成空腔,因此,山桐子雌花内的雄配子体发育不正常,不能形成正常的两性花。在雄花小孢子发生和雄配子体发育过程中,同一药室中小孢子的发生和雄配子体的生长发育基本同步,但是同一朵花内的不同药室间的小孢子的发生和雄配子体的生长发育过程存在不同步现象,

相差大约 1~2 个分裂时期(图 3③c)。

2.3.2 雌配子体发育过程 雌花的发育包括大孢子的发生和雌配子体的发育。

2.3.2.1 大孢子发生 山桐子子房为 5 心皮一室,每室多个胚珠。胚珠由珠心、珠被、珠孔、胚珠维管束等部分组成。当子房室形成后(4 月上旬),在子房壁的内表皮下局部产生一小突起,即为胚珠原基(图 4①a~①c)。胚珠原基细胞继续进行平周和垂周分裂,与子房相连的部分形成珠柄,而另一端细胞发育成珠心组织(图 4①d、①e)。珠心组织中,胚珠倒生,双珠被和厚珠心(图 4①f)。在珠心顶端表皮下第 2 层细胞中的一个细胞体积增大,发育成单个孢原细胞(图 4②a)。它进行一次平周分裂形成 1 个初生周缘细胞和 1 个内层的初生造孢细胞(图 4②b)。周缘细胞在造孢细胞的周围进行垂周分裂。随着初生造孢细胞体积增大,它分化成大孢子母细



注:①a~①d:小孢子发育情况;②a~②e:雄配子体发育情况;③a~③b:雄花中小孢子发育情况,示退化花药;③c:小孢子发育不同步现象。

图 3 山桐子小孢子发生及雄配子体发育过程

Fig. 3 Developmental features of male gametophyte of *I. polycarpa*

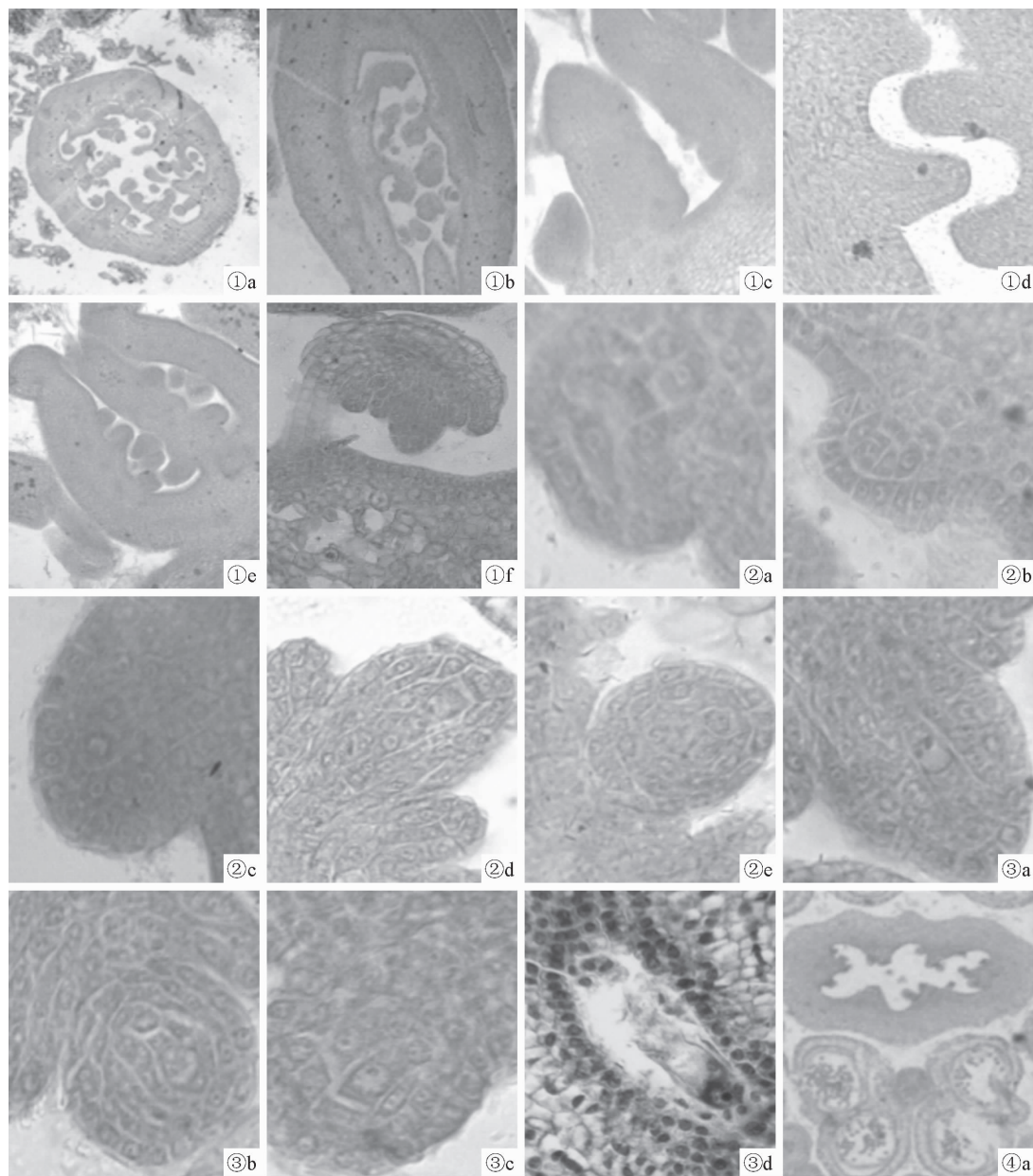
胞(图 4②c)。大孢子母细胞核位于细胞的珠孔区域,浓稠的原生质位于合点区。大孢子母细胞经过减数分裂产生 1 个线形的大孢子四分体(图 4②d)。上面的 3 个大孢子从合点端向上逐渐退化解体,合点端的 1 个大孢子充当功能性大孢子(图 4②e)。

2. 3. 2. 2 雌配子体发育 合点端功能大孢子体积继续增大,逐渐占据退化的 3 个大孢子留下的空间(图 4③a)。随后发生 1 次有丝分裂,形成两个核,但并不伴随着细胞质分裂,两个核分别向反方向移动到胚囊两端形成二核胚囊(图 4③b)。2 个细胞核处于胚囊的两极,在分别到达合点端和珠孔端后又进行 2 次有丝分裂,从二核胚囊变为四核胚囊(图 4③c)。四核胚囊中的 4 个细胞核再一次进行一次核分裂从四核胚囊变为八核胚囊,其中珠孔端和合点端各有 1 个细胞核向胚囊中间移动,将来形成中央细胞,合点端 3 个核,珠孔端 3 个核,珠孔端 3 个核形成 2 个助细胞 1 个卵细胞(图 4③d)。该发育过程观察表明,山桐子胚囊发育属于蓼型。

山桐子雄花内的子房在雄蕊发育初期形成胚珠原基,但以后停止发育,到雄蕊形成单核花粉粒时,也只能看到退化子房中发育不完全的胚珠(图 4④a)。

3 结论与讨论

植物的花芽分化是一个复杂的生理生化和形态分化过程。在植物花芽分化的过程中,几乎每一个环境条件都能改变植物花芽分化中的反应,包括温度、营养物质和水等^[3]。植物花芽形态建成的全过程分为 3 个阶段:第 1 阶段是花(或花序)原基在长日照和高温条件下进行分化和发育;第 2 阶段是花芽转入相对休眠的时期,需要一定量的低温时数才能形成健壮花(或花丛)^[10];第 3 阶段是在休眠结束后,随着气温的升高,花器各部分原基迅速发育进而开花,此时期花芽对环境条件反应敏感,若遇干旱、冻害及营养不良,可使性细胞发育终止或坏死^[11]。确定山桐子花芽分化的日期,研究花芽分化的全过程,在生产上具有重要意义,它既是了解山桐子生物



注:①a:侧膜胎座;①b:倒生胚珠;①c~①e:胚珠发育情况;①f:双珠被、厚珠心;②a~②e:大孢子发育情况;③a~③d:雌配子体发育情况;④a:示雄花中退化子房。

图 4 山桐子胚珠和雌配子体发育过程

Fig. 4 Developmental features of ovule and female gametophyte of *I. polycarpa*

学特性的基础资料,又能作为制定山桐子丰产栽培措施的依据。本研究中,山桐子的花芽分化始于 8 月下旬,芽体基部膨大,苞片顶尖松开,生长锥肥大而且显著伸长,顶端生长锥逐渐变阔圆,最终呈扁平状,此时应多浇水施肥以满足芽体由营养型向生殖型转化时的营养需求。芽体形成花序轴原基之后(9 月上旬)进入休眠期,王艳梅^[12]等发现山桐子具有冬芽休眠的特性,只有经过低温冬芽才能生长,顶芽的有效低温为 5~10℃,侧芽为 25℃。第 2 年春季休眠芽萌发之后,花芽分化历时短、分化速度快,从 3 月下旬休眠芽萌动到雌、雄蕊形成,只需 30~35 d,且花芽形成数量比较多,花芽分化时需要消耗树

体大量的水分和养分,此时应合理浇水施肥,保证产量。

雌雄异株现象在常见树种中广泛存在^[13]。雌雄异株是由雌雄同花经不同途径多次独立进化而来。山桐子为雌雄异株植物,雄花中有一退化的子房,雌花内也有多数退化雄蕊。通常雌雄异株植物在单性花发育过程中,通过限制异性花器官的发育,最终形成仅具雌性或雄性器官的单性花,漆树科黄连木属的阿月浑子具有此特点^[14],在山桐子中也发现这种现象,与赖书绅^[15]、樊国盛^[16]对大风子科山桐子属植物研究结果类似。

参考文献：

- [1] 祝志勇. 山桐子繁殖技术与开发利用 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [2] 刘根林, 梁珍海, 蒋泽平. 山桐子研究综述 [J]. 江苏林业科技, 2005, 32(5): 46-49.
- [3] 曲波, 张微, 陈旭辉, 等. 植物花芽分化研究进展 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(24): 109-114.
- QU B, ZHANG W, CHEN X H, *et al.* Research progress of flower bud differentiation mechanism of plant [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(24): 109-114. (in Chinese)
- [4] 王彩云, 高莉萍, 鲁涤非, 等. ‘厚瓣金桂’桂花花芽形态分化的研究 [J]. 园艺学报, 2002, 29(1): 52-56.
- WANG C Y, GAO L P, LU D F, *et al.* A study on morphological differentiation of flower bud of *Osmanthus fragrans* ‘Houban Jingui’ [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29(1): 52-56. (in Chinese)
- [5] 岁立云, 刘晓敏, 李周岐, 等. 山桐子果实性状的自然变异及类型划分 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(8): 115-120.
- SUI L Y, LIU X M, LI Z Q, *et al.* Natural variation and variation types of fruit characters of *Idesia polycarpa* Maxim. [J]. Journal of Northwest A & F University: Nat. Sci. Ed., 2009, 37(8): 115-120. (in Chinese)
- [6] 刘晓敏, 岁立云, 李周岐, 等. 促进山桐子种子萌发技术研究 [J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 324-327.
- LIU X M, SUI L Y, LI Z Q, *et al.* Studies on technique of improving seed germination of *Idesia polycarpa* Maxim. [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2009, 18(4): 324-327. (in Chinese)
- [7] YANG F X, SU Y Q, LI X H, *et al.* Preparation of biodiesel from *Idesia polycarpa* var. *vestita* fruit oil [J]. Industrial Crops and Products, 2009, 29: 622-628.
- [8] 祝志勇, 王强, 阮晓, 等. 不同地理居群山桐子的果实含油率与脂肪酸含量 [J]. 林业科学, 2010, 46(5): 176-180.
- ZHU Z Y, WANG Q, RUAN X, *et al.* Analysis of oil rate and fatty acids content of *Idesia polycarpa* fruits from different geographical populations [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2010, 46(5): 176-180. (in Chinese)
- [9] 李正理. 植物组织制片学 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1996.
- [10] 艾云蕊, 刘爱青, 韩婧, 等. 冬季土壤自然封冻始期 4 个品种芍药的花芽发育状态 [J]. 西北林学院学报, 2016, 31(3): 119-123.
- AI Y B, LIU A Q, HAN J, *et al.* Floral bud differentiation stage of 4 peony cultivars in the initial period of soil naturally frozen in winter [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31(3): 119-123. (in Chinese)
- [11] 杨恒, 魏安智, 杨途熙, 等. 核果类果树设施栽培的主要增产技术途径分析 [J]. 西北林学院学报, 2004, 19(4): 61-64.
- YANG H, WEI A Z, YANG T X, *et al.* An analysis on main technical approaches of increasing production of drupe fruit tree cultivation [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2004, 19(4): 61-64. (in Chinese)
- [12] 王艳梅, 姚顺阳, 刘宇新, 等. 3 种源山桐子冬芽休眠及萌发的温度特性分析 [J]. 河南科学, 2013, 31(12): 2160-2165.
- WANG Y M, YAO S Y, LIU Y X, *et al.* The temperature characteristics of *Idesia polycarpa* winter buds dormancy and sprouting from three provenances [J]. Henan Science, 2013, 31(12): 2160-2165. (in Chinese)
- [13] 赵林森, 徐锡增, 崔培毅, 等. 雌雄异株树种植株性别鉴定的研究 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 1998, 22(1): 71-74.
- ZHAO L S, XU X Z, CUI P Y, *et al.* Advances in sex identification of dioecious plants [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences, 1998, 22(1): 71-74. (in Chinese)
- [14] PAYER J B. Traité d'organogénie comparée de La fleur [M]. Paris: Victor Masson, 1857.
- [15] 赖书绅. 中国大风子科研究资料 [J]. 植物研究, 1994(3): 221-230.
- [16] 樊国盛. 山桐子属 *Idesia* Maxim. nom. Cons [J]. 西南林学院学报, 1995, 15(3): 28-31.