

# 糜子的小孢子发生与花粉发育

刘福在\* 张满贵

(内蒙古自治区伊克昭盟农业科学研究所, 东胜)

## 摘 要

观察结果表明, 糜子小孢子发生与花粉发育的细胞学过程, 与稻麦等禾本科作物相似: 减数分裂属顺序型, 一般形成等面形四分体; 也观察到线形、T形及各种倾斜形的四分体; 小孢子经两次有丝分裂发育成三核型花粉粒; 成熟的花粉粒为球形, 具一个萌发孔, 直径48 (45~52)  $\mu\text{m}$ 。花粉发育过程中, 生殖细胞的运动、淀粉积累时期及花粉粒体积增大动态的观察结果与一些报道不同。

糜子的小孢子发生和花粉发育与花药长度存在密切关系, 而花药长度随时间呈S形增长方式。本文利用上述关系求得小孢子发生与花粉发育各阶段的经历时间。

**关键词** 糜子 减数分裂 小孢子发生 花粉发育

对于糜子小孢子发生和花粉发育的细胞学行为, 金芝兰(1986)主要以石腊切片法作了观察〔1〕, 但对小孢子发生的过程报道很少, 花粉发育的过程尚存一些值得讨论的问题。我们在糜子幼穗分化的研究中(1986), 曾把这一过程划为“花粉粒分化与形成期”, 并作了简要介绍〔2〕。除此之外, 目前尚未见有更系统的资料。为了对这一过程有更全面和深入的了解, 我们采用压片和涂片法观察了从小孢子母细胞减数分裂到花粉成熟的细胞学特点, 并且研究了与花药长度的关系及各阶段在田间条件下的经历时间。

## 材料与方法

观察材料有极早熟品种73—11—3、早熟品种内糜2号、晚熟品种内糜3号, 在本地5月下旬播种, 生育期分别为80~90、95~100、115~120天, 三个品种均为侧穗类型。材料种植于本所达拉特旗试验场, 一般5月20日播种, 有时设置6月20日晚播处理。在灌溉条件下种植, 田间生长发育正常。

减数分裂期采用花药压片法观察。卡诺氏液固定(无水乙醇3:冰醋酸1), 70%酒精保

1990—5—16收稿。 \*刘福在, 现已调江苏省科学技术协会工作。

本文属内蒙古自治区自然科学基金资助项目。

存,孚尔根法染色,60℃的1N HCl水解15分钟。初生小孢子期或单核期(萌发孔形成)到双核初期采用I-KI活体涂片染色观察。双核期到花粉成熟,固定保存同减数分裂,染色前在70%酒精中加饱和水合三氯乙醛预处理,苏木精染色,丁香油+乳酸+水合三氯乙醛涂片与分色观察。

供了解花药长度与内部小孢子发生、花粉发育关系的花药,均取自内稃一方,花药长度在显微镜下放大40倍测量。减数分裂及双核以后的观察,以活体花药长度为标准,固定前在小穗上测得花药长度并在小穗柄上做标记,供观察时鉴别。

小孢子发生和花粉发育各期的经历时间,通过对花药长度随时间增长三项式数学模型求得。花药长度增长的测定:田间选相同叶片的植株,每次取样20株,室内在显微镜下测定主茎花序顶部小穗内稃一方的花药长度;统计时去掉发育过早过晚的10株,取中间10株求平均数。取样时间:减数分裂阶段每2小时一次,以后每12或24小时一次,直到开花。

## 结果与讨论

### 一、小孢子发生与花粉发育的细胞学特点

观察表明,糜子小孢子发生与花粉发育细胞学过程类似小麦、水稻等禾本科作物〔3,4〕,经历减数分裂、初生小孢子期、单核期、双核期、三核期几个阶段,本文仅指出重要的细胞学现象及与前人工作的不同点。为了资料的完整性,列出较详细的显微照片。

减数分裂前期I,除一般的染色体行为变化外,还表现如下特点:细线期,染色体孚尔根反应着色很浅,呈丝状分布在整個胞核中(图1—1);偶线期,染色体凝聚在核仁一侧,孚尔根反应着色明显加深(图1—2);粗线期、双线期,染色体仍分布在核仁一侧(图1—3,4);终变期,染色体近似颗粒状,分布在核膜边缘(图1—5)。小孢子母细胞在细线期之后存在一个不断发育与充实的过程,细胞形状开始较小,很不规则,随着发育逐渐变大变圆,到双线期才变为椭圆形,体积不再增大。这些特点与水稻非常相似〔3〕。

糜子减数分裂为顺序型,前I期很短,一般形成等面形四分体(图1—6~14,20)。但是我们也发现存在着线形、T形及各种倾斜形的四分体(图1—15~20),有时一个花药中出现包括等面形在内的各种类型。与等面形四分体相比,这些四分体的形成是在减数分裂的第二次分裂中两子细胞或其中之一与第一次分裂的纺锤体轴向角度发生了变化(有的可能在第一次分裂时纺锤体轴向就发生偏斜),一般的变化呈倾斜的角度,极端的变化则呈相同的方向。被子植物的四分体类型,除四面形和等面形外,少数科属中已报道存在线形、T形及交互形四分体〔8〕,金芝兰对糜子的观察也发现了线形与T形(不规则)两种四分体。目前对这些四分体没有更深入的研究和讨论,一般认为是小孢子发生的正常方式。本次观察没有发现交互形四分体,但发现各种倾斜形四分体。根据我们观察,这些四分体出现比例与等面形四分体比毕竟较少,且样本间、花药间存在较大差异,细胞形状也不很规则,因此推测其形成似与环境影响有关。

四分体后,初生的小孢子分散开,经过一定的充实,形状逐渐变圆(图2—1,2)。单核早期小孢子的胞壁发生,形成萌发孔,胞质致密,核居中(图2—3)。以后,随着液胞出现、

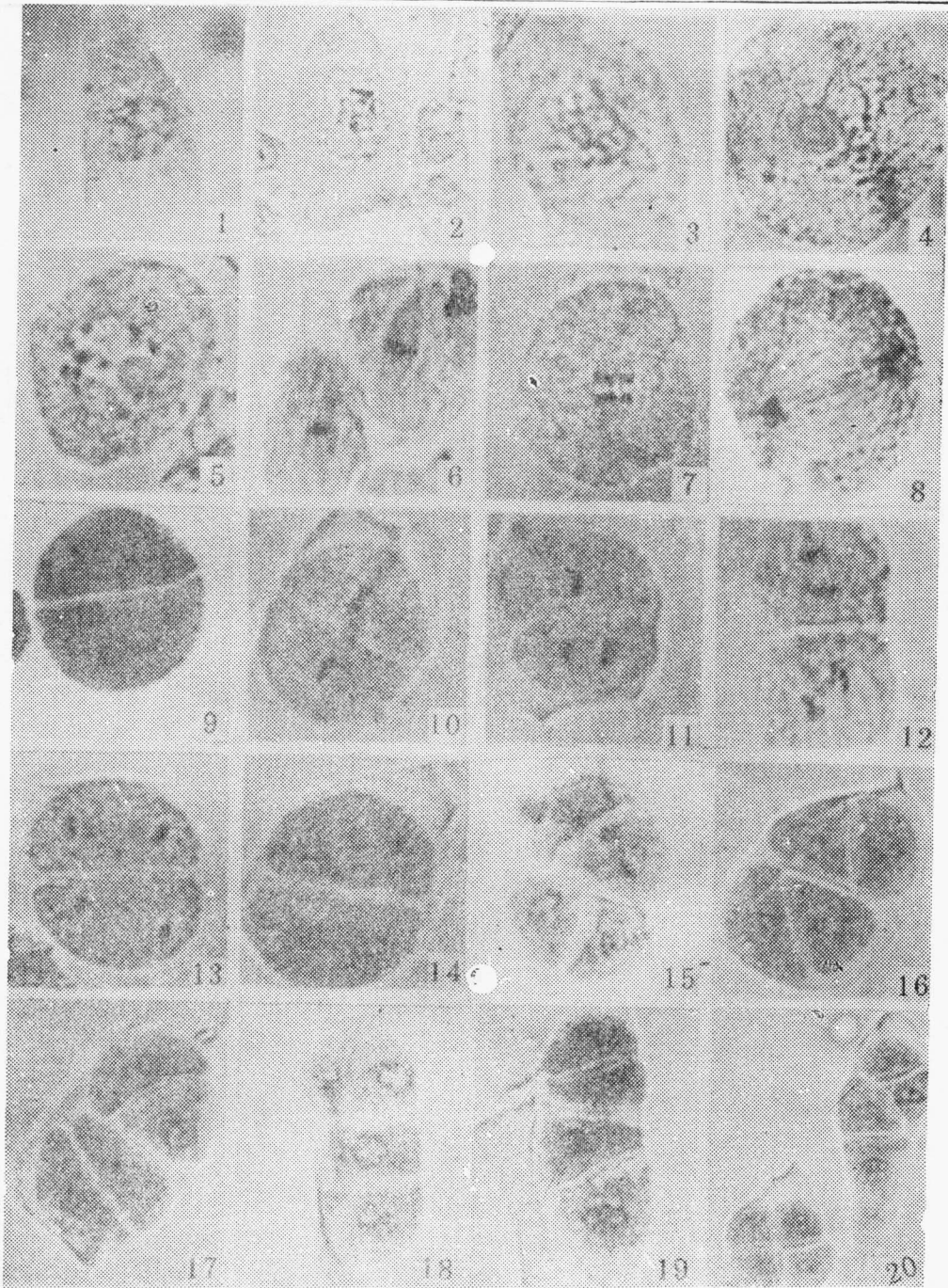


图1 糜子的小孢子发生与花粉发育

1 细线期；2 偶线期；3 粗线期；4 双线期；5 终变期；6 中期Ⅰ；7 后期Ⅰ；8 末期Ⅰ；9 前期Ⅱ；10 中期Ⅱ；11 示两个细胞不同步分裂；12 示第二次分裂纺锤体轴向发生改变；13 后期Ⅱ；14 末期Ⅱ；15—17、20右上 各种倾斜形四分体；13 T形四分体；19 线形四分体；20 左下 等面形四分体。6， $\times 700$ ；20， $\times 467$ ；其它， $\times 845$ 。所有图均为孚尔根反应法染色。

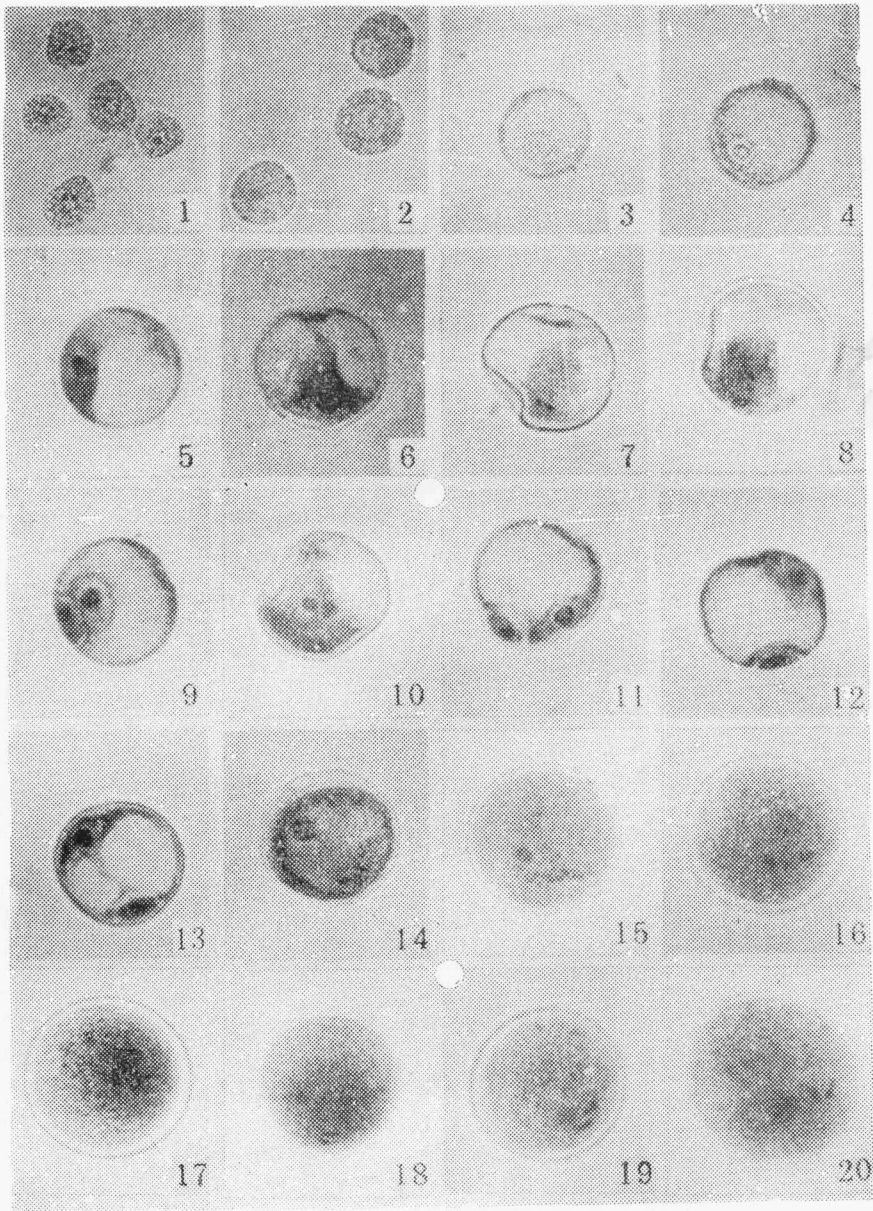


图2 糜子的小孢子发生与花粉发育

1—2 初生小孢子；3—5 单核花粉，示胞核受液泡压迫从花粉中心移向萌发孔对面的花粉壁；6—8 花粉发育中第一次有丝分裂，分别示前、中、后期；9—14 双核花粉，示营养细胞从萌发孔对面移向萌发孔，然后移向花粉中央；10 示具两核仁的营养核；13 示细胞质素；14 示开始积累淀粉；15 花粉发育的第二次有丝分裂的中期；16 精细胞最初形成；17—20 成熟的花粉粒，示精细胞的各种分布方式。全部 $\times 462$ 。1—4 I—KI染色；5—20 苏木精染色。

合并及扩大,核被挤向胞壁,最终移向萌发孔相对一边(图 2—4, 5),在这里完成第一次有丝分裂(图 2—6~8)。从第一次有丝分裂后期分裂象看出,纺锤体轴向与胞壁是垂直的,这与陆文梁对小麦的观察不同〔4〕。

在第一次有丝分裂之前,小孢子内胞质也发生了向胞核集中的过程,不难理解,这是与胞核分裂的物质与能量需求有关。对这次胞质运动,陆文梁指出在胞核处形成一细胞质团向萌发孔突起,有时会与对面胞质连接形成胞质环流〔4〕,金芝兰则指出这种细胞质索的出现与消失是小孢子第一次有丝分裂开始与结束的特有标志〔1〕。本观察尚不能肯定由这种方式是否会产生细胞质索,但在单核中晚期由于液泡扩大形成的细胞质索则是常见的(在体细胞及大孢子中为一般细胞学现象),一般在单核晚期消失,有时也延续到双核期(图 2—13)。对于由液泡扩大产生的细胞质索陆文梁与金芝兰没有指出,他们所说的细胞质索是否与此混淆很值得怀疑,而金芝兰以细胞质索作为第一次有丝分裂的标志显然是不恰当的。

小孢子第一次有丝分裂后形成营养核与生殖核。营养核向着萌发孔一方,较大,有 1~2 个核仁;生殖核紧贴胞壁,较小,有一个核仁;二者中间形成拱形壁,与小孢子壁连接,把生殖核包围在其中,发育成生殖细胞(图 2—9~11)。以后营养核受液泡压迫沿胞壁移向萌发孔(图 2—11~13)。营养核移到萌发孔一端后,陆文梁的观察认为生殖细胞脱离胞壁裸露出来,并也沿着胞壁移到萌发孔处与营养核汇合,然后一起进入细胞中央进行花粉的第二次有丝分裂〔4〕;而金芝兰对糜子的观察也认为,生殖细胞移向萌发孔处,并与营养核紧贴在一起,就在萌发孔处分裂形成精细胞,然后精细胞与营养核一起通过花粉粒中央移向萌发孔对面,直到开花〔1〕。我们的观察与他们不同。营养核到达萌发孔后,随着淀粉积累(继而液泡缩小)进入花粉中央或偏向生殖细胞一侧(图 2—14)。生殖细胞原拱形壁解体较晚,在营养核进入细胞中央后生殖细胞才脱离花粉壁,作较小的移动,有的几乎停留在原地进行分裂,没有向萌发孔移动与营养核汇合的过程。在营养核向细胞中央移动过程中淀粉粒开始积累,因而生殖细胞分裂是在淀粉粒充实后进行的。这些过程涂片中不经醛处理就不能观察到。人们一般把淀粉积累作为花粉粒进入三核期的标志,金芝兰则认为糜子是生殖细胞分裂并形成精细胞后开始积累淀粉粒〔1〕,我们的观察不同于这些认识。这一结果同时表明,花粉细胞内充实淀粉粒后,生殖细胞离开胞壁不可能有较大的移动,生殖细胞分裂后更没有可能进行大幅度的有规律的运动。

营养核接近生殖细胞后,生殖细胞开始分裂,从有丝分裂中期分裂象看出,纺锤体轴无一定的方向(图 2—15)。初形成的精细胞呈圆形(图 2—16),以后变为一头较钝的楔形(图 2—20~24)。成熟的花粉粒两精细胞与营养核距离比较近,多分布在花粉粒的偏侧,两精细胞之间及与营养核相对位置无一定规律。

小孢子发生后,花粉粒的体积发生较大的变化。刚从四分体分散的小孢子很小,直径约  $18\mu\text{m}$ ;小孢子经充实发育,到单核早期直径达  $26(24\sim30)\mu\text{m}$ ;单核期进一步增大,到双核初期直径达  $39(36\sim42)\mu\text{m}$ ;双核期变化不大,到双核末约  $42\mu\text{m}$ ;双核末到三核初期又一次增大,直径达  $46(45\sim47)\mu\text{m}$ ,接近成熟花粉粒的体积;成熟花粉粒直径  $48(45\sim52)\mu\text{m}$ 。糜子花粉粒外形同小麦、水稻等禾本科作物,花粉粒大小与小麦相近,比水稻大〔5〕,但内

部精细胞则显得比小麦小，与水稻相似〔3，4〕。上述表明糜子花粉粒变化呈两次增大过程，我们推测第一次增大可能与小孢子充实及单核期液泡扩大有关，第二次增大可能与双核

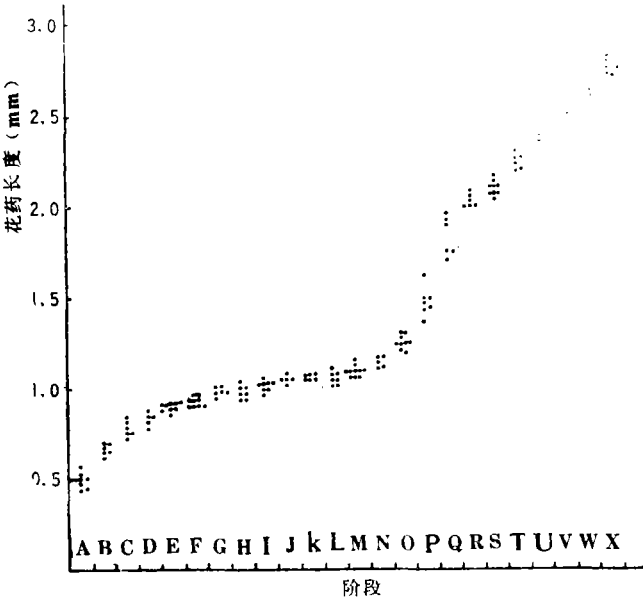


图3 小孢子发生和花粉发育各阶段花药长度分布（内糜3号）

A 细线期；B 偶线期；C 粗线期；D 双线期；E 终变期；F 终期Ⅰ；G 后期Ⅰ；H 末期Ⅰ；I 前期Ⅱ；J 中期Ⅱ；K 后期Ⅱ；L 末期Ⅱ；M 四分体；N 初生小孢子；O 单核早期；P 单核中期；Q 单核晚期；R 花粉第一次有丝分裂；S 双核早期；T 双核中期；U 双核晚期；V 花粉第二次有丝分裂；W 三核早期；X 花粉成熟。

晚期后淀粉积累有关。关于花粉粒体积的变化，小麦上 Bennett 指出从四分体小孢子到开花为线性增大〔7〕，在水稻上山田记正报道呈两次增长，本文结果与后者非常相似〔6〕。金芝兰认为糜子花粉粒在单核晚期便定型，这是错误的。

二、小孢子发生和花粉发育与花药长度的关系

我们曾报道了糜子小孢子发生与花粉发育一些阶段的叶片和花器状态，可粗略地对某些阶段进行推断〔2〕。为了寻找其全过程的外部形态指标，我们较系统地研究了与花药长度的关系。

观察统计品种为内糜3号、内糜2号、73—11—3。图3为内糜3号小孢子发生和花粉发育各阶段与花药长度的对应关系，其它两品种趋势一样。三个品种各主要阶段的花药长度统计结果列于表1。

表1 小孢子发生与花粉发育各阶段的花药长度（mm）

阶 段	内糜3号		内糜2号		73—11—3		平均
	幅 度	平均	幅 度	平均	幅 度	平均	
细线期	0.45—0.58	0.50	0.45—0.55	0.49	0.45—0.55	0.50	0.50
中期Ⅰ	0.90—0.95	0.92	0.90—0.95	0.93	0.88—0.98	0.93	0.93
前期Ⅱ	0.98—1.05	1.02	0.95—1.05	0.99	0.98—1.05	1.02	1.01
四分体期	1.03—1.15	1.10	1.08—1.13	1.09	1.08—1.13	1.10	1.10
单核早期	1.20—1.30	1.25	1.18—1.30	1.25	1.20—1.30	1.26	1.25
双核早期	2.05—2.13	2.09	2.05—2.15	2.11	2.03—2.15	2.10	2.10
三核早期	2.60—2.65	2.62	2.58—2.65	2.61	2.60—2.65	2.63	2.62
开花期	2.73—2.80	2.75	2.75—2.80	2.76	2.73—2.78	2.75	2.75

每品种各阶段统计花药数8—14个。



结果表明, 糜子小孢子发生和花粉发育与花药长度的增长有密切的同步关系。所观察品种最终花药长度一致, 均为2.75mm, 花药长度从0.50mm到2.75mm, 包含了花粉形成的全过程。各阶段花药长度的变异幅度较小, 距平均数各样本个体间小于0.1mm, 而样本平均数间则小于0.01mm。所观察品种生育期差异很大, 并且在田间形成花粉的时期不同, 气候条件也存在着较大差别(如73—11—3在7月上旬, 内糜3号在7月下旬)。观察结果表明, 花粉形成与花药生长的同步关系受品种与气候条件影响不大。对于气候条件的影响, 我们非系统地对6月20日晚播材料的观察(8月上中旬形成花粉)也支持这一结论。

花药与内部性细胞在组织发生上关系最为密切, 花药用于花粉形成各阶段的诊断准确性应该是最高的, 但长期以来出于生产实用性考虑没有予以足够的重视。事实上以花药长度作为推断指标在较细致的工作中或有一定观察手段的情况下是非常必要的。本观察结果表明, 糜子可利用花药长度诊断小孢子发生和花粉发育的全过程, 对确定表2所列阶段的准确性是足够的, 并且有可能在较多品种和较大地域范围内使用相同指标。

### 三、小孢子发生与花粉发育各主要阶段的经历时间

上述结果明确了花药长度与小孢子发生和花粉发育各阶段的对应关系, 这样根据花药长度与其田间生长时间的函数关系可求得这些阶段的经历时间。1984年, 我们对内糜3号、内糜2号花药长度增长过程作了系统观察, 为了了解气候条件的影响, 对内糜2号增设了晚播处理(6月20日播种)。

花药长度随时间的增长符合一般的生物生长规律, 呈S型曲线增长方式, 配合三项式有很好的拟合性:

$$\begin{aligned}\hat{y}_1 &= 0.351355 + 7.74250 \times 10^{-4}x + 1.56644 \times 10^{-4}x^2 \\ &\quad - 5.09290 \times 10^{-7}x^3 (R^2 = 0.9880, P < 0.001) \\ \hat{y}_2 &= 0.327053 + 3.53021 \times 10^{-3}x + 1.01903 \times 10^{-4}x^2 \\ &\quad - 3.07497 \times 10^{-7}x^3 (R^2 = 0.9833, P < 0.001) \\ \hat{y}_3 &= 0.371299 + 7.02435 \times 10^{-4}x + 1.12262 \times 10^{-4}x^2 \\ &\quad - 3.07274 \times 10^{-7}x^3 (R^2 = 0.9928, P < 0.001)\end{aligned}$$

式中 $y$ 为花药长度(mm),  $x$ 为生长时间(h), 播种时间依次为 $y_1$ (内糜3号)5月22日,  $y_2$ (内糜2号)5月22日,  $y_3$ (内糜2号)6月20日。由于三个观察材料花药长度一样, 生长经历时间相差不是很大, 生长曲线相近, 只以内糜3号为例图示(图4)。从生长曲线看出, 花药在减数分裂前不久进入强烈生长阶段, 单核期达到生长高峰期, 双核后期生长变缓, 接近开花期停止生长。

将表1结果代入上述三项式, 得出小孢子发生与花粉发育各主要阶段经历时间, 结果列于表2。从表2看出, 尽管三个观察材料间各阶段存在着差异, 但有比较固定的比例。各阶段比较, 减数分裂期, 以前I期需要时间长, 中I至后I与第二次分裂时间较短, 二者相近, 四分体之后的花粉粒发育阶段, 以单核期时间较长。这些结果都符合一般规律。植物花粉分化时间除环境因素外, 与染色体数量、倍性及DNA含量等有关, 粮食作物中普通小麦

经历时间有较详细的资料〔7〕。与20℃平均温度下的小麦比, 糜子减数分裂时间较长(小麦为24小时), 四分体至花粉第一次有丝分裂(花粉充实期+单核期)相近或略长(小麦为60小时), 双核期、三核期较短(小麦两阶段均为60小时), 特别是三核期更短。

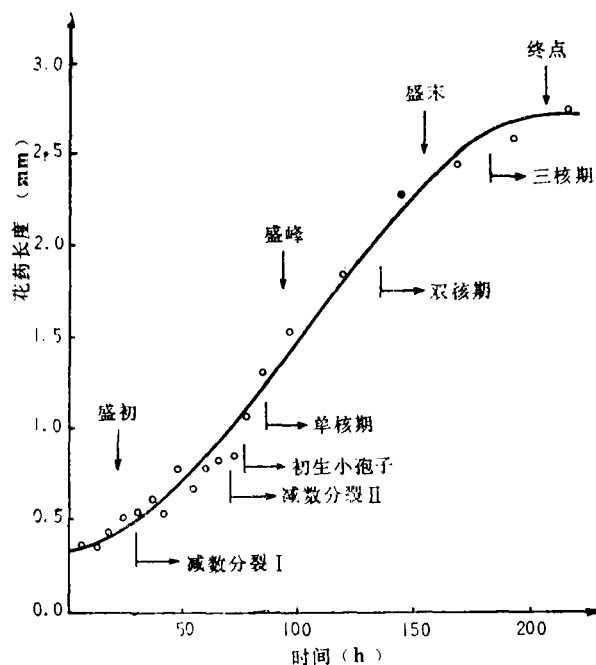


图4 花药长度增长的三次曲线(内糜3号, 5月20日播种)。

表2 小孢子发生与花粉发育各期经历时间与所占比例

时 期	内糜3号, 5月20日播种		内糜2号, 5月20日播种		内糜2号, 6月20日播种	
	时间 (h)	比例 (%)	时间 (h)	比例 (%)	时间 (h)	比例 (%)
减数分裂	48	26.8	52	27.4	57	28.1
前期 I	36	20.1	39	20.5	43	21.2
中期 I—前期 II	6	3.4	6	3.2	7	3.4
前期 II—四分体	6	3.4	7	3.7	7	3.4
初生小孢子期	9	5.0	10	5.3	11	5.4
单核期	52	29.1	59	31.0	60	29.6
双核期	46	25.7	47	24.7	49	24.1
三核期	24	13.4	22	11.6	26	12.8
总时间	179		190		203	

\*四分体阶段至萌发孔形成。

植物小孢子发生与花粉发育对低温和高温反应都较敏感〔7〕, 我们在糜子穗分化研究中, 对诸因素分析表明, 低温和高温都有延长这一过程经历时间的作用〔2〕。本次观察也支



持这一结果。小孢子发生和花粉发育时期, 内糜 3 号 5 月 20 日播种的为 7 月 25 日~ 8 月 2 日, 日平均温度  $24.2^{\circ}\text{C}$ , 日最高温度  $\geq 30^{\circ}\text{C}$  日数 6 天; 内糜 2 号 5 月 20 日播种的为 7 月 19 日~ 7 月 28 日, 日平均温度  $24.3^{\circ}\text{C}$ , 日最高温度  $\geq 30^{\circ}\text{C}$  日数 9 天; 内糜 2 号 6 月 20 日播种的为 8 月 4 日~ 8 月 13 日, 日平均温度  $19.8^{\circ}\text{C}$ , 日最高温度  $\geq 30^{\circ}\text{C}$  日数 5 天。内糜 2 号晚播处理经历时间较长, 显然是受低温影响之故; 内糜 3 号与内糜 2 号同期早播相比, 后者高温日数出现较多, 特别是有 3 天达  $33-36^{\circ}\text{C}$ , 延长了经历时间。内糜 3 号是本地主体品种, 5 月下旬播种对生长发育及产量都是最适播期, 建议将本次该品种的资料作为糜子小孢子发生和花粉发育的一般时间概念引用。

### 参 考 文 献

- [1] 金芝兰: 糜子的小孢子发育和雄配子体形成, 《西北植物学报》, 6 (4) 1986: 252—259
- [2] 刘福在: 糜子的幼穗分化的形态、进程及其与外部形态的关系, 《作物学报》, 12 (4) 1986: 279—284
- [3] 李扬汉: 《禾本科作物的形态与解剖》, 上海科学出版社, 1979: 94—97; 180—181
- [4] 陆文梁等: 小麦小孢子发生和花粉发育的细胞学观察, 《植物学报》, 26 (1) 1984: 28—33
- [5] 中国科学院植物研究所形态室孢粉组: 《中国植物花粉形态》, 科学出版社, 1960: 134—135
- [6] 山田记正: 水稻花粉发育生理学的研究 (第1报), 《日本作物学会纪事》, 41 (3) 1972: 320—331
- [7] Bennett, M.D.: The Cell in Sporogenesis and Spore Development. In "Cell Division in Higher Plants (Ed. M.M. Yeoman)", ACADEMIC PRESS, London, New York, San Francisco, 1976: 162—198
- [8] Maheshwari, P.: An Introduction of the Embryology of Angiosperms, McGRAW-HILL BOOK COMPANY, INC, New York, Toronto, London, 1950: 45—46

## The Microsporogenesis and Pollen Development in Broomcorn Millet

Liu Fuzai            Zhang Mangui

(Agricultural Research Institute of Yikezhao League of the Nei  
Monggol Autonomous Region, Dongsheng)

### Abstract

The squash or smear method was used for cytological observations on the microsporogenesis and pollen development in broomcorn millet (*Panicum miliaceum*). The results showed that the cytological changes were similar to that of rice, wheat and other graminaceous crops. The meiosis of the microsporocyte is of successive type, which usually forms isobilateral tetrad, linear, T-shaped and slapt tetrads were found also. The microspore undergoes two mitosis to form 3-celled pollen grains. The mature pollen grain is round, has one aperture and a diameter of 48 (45—52)  $\mu\text{m}$ . In pollen development, the movement of generative cell, the stage of starch accumulation, the increase in pollen volume and other characters observed were different from some reports.

The progress of microsporogenesis and pollen development were closely associated with anther length, and the anther length increased with sigmoidal pattern on time. In the present paper, according to above relationships, the durations of each period of microsporogenesis and pollen development were determined.

**Key words:** Broomcorn millet (*Panicum miliaceum*); Meiosis; Microsporogenesis; Pollen development