

文章编号: 1674-7054(2012)04-0361-04

# 金毛狗卵发育的观察

王戈杨浩,王全喜,曹建国

(上海师范大学生命与环境科学学院,上海 200234)

**摘要:** 用显微镜及透射电镜(TEM)对金毛狗(*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.)卵的发育进行了观察,结果表明,金毛狗幼卵时期,卵细胞与腹沟细胞间的胞间连丝发达,卵细胞内含大量囊泡,质体含淀粉粒;随着生长发育,卵细胞与腹沟细胞之间产生分离腔,但腹沟细胞与卵细胞始终通过孔区相连,发育中期,卵细胞上方开始形成卵膜。电镜观察表明,卵细胞上方的卵膜较厚,由多层膜构成,侧方和下方的卵膜较薄;孔区上方无卵膜覆盖,从而形成受精孔。发育后期,卵细胞内囊泡消失,质体退化,卵核形成大量核外突。

**关键词:** 金毛狗;卵细胞;发育;超微结构

**中图分类号:** Q 914.85

**文献标志码:** A

金毛狗(*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.)是国家二级重点保护植物,也是重要的药用和观赏植物,秦仁昌分类系统将金毛狗归属于蚌壳蕨科金毛狗属<sup>[1]</sup>,而近代的分子生物学却将金毛狗属单列为金毛狗科<sup>[2]</sup>。然而,这些研究却缺少有性生殖的证据,配子发生是有性生殖的重要方面,笔者近来的研究结果表明,卵细胞发生对阐明蕨类植物演化地位具有重要的意义<sup>[3]</sup>。迄今,已对蕨(*Pteridium aquilinum*)、栗蕨(*Histiopteris incisa*)、分株紫萁(*Osmunda cinnamomea* var. *asiatica*)、粗茎鳞毛蕨(*Dryopteris crassirhizoma*)等同型孢子蕨类的卵发生进行了研究,发现卵细胞外具有卵膜<sup>[4-7]</sup>,但在异型孢子蕨苹(*Marsilea*)卵发生中并未发现<sup>[8]</sup>。蕨(*P. aquilinum*)、栗蕨(*H. incisa*)、粗茎鳞毛蕨(*D. crassirhizoma*)等进化蕨类卵发生过程中具有核质互作现象,但在原始蕨类紫萁科卵发生中则无该现象<sup>[9]</sup>。近来的研究表明,水蕨(*Ceratopteris thalictroides*)、阔鳞瘤蕨(*Phynatosorus hainanensis*)、扇叶铁线蕨(*Adiantum flabellulatum*)、蕨(*P. aquilinum*)等真蕨类卵发生中具有受精孔<sup>[10-13]</sup>,现已阐明它是精子进入的通道<sup>[14]</sup>。这些研究表明,水蕨(*C. thalictroides*)、扇叶铁线蕨(*A. flabellulatum*)的卵膜与蕨(*P. aquilinum*)、栗蕨(*H. incisa*)、粗茎鳞毛蕨(*D. crassirhizoma*)等不同,前者的卵膜是由多层膜构成,后者的卵膜是由嗜锲性物质在质膜外沉积构成,表明蕨类卵膜形成具有一定的差异。因此,不同演化地位的蕨类植物卵发育具有差异,这对阐明蕨类植物的演化地位具有指导作用。笔者利用显微镜及透射电镜(TEM)对金毛狗(*Cibotium barometz*)卵的发育过程进行了研究,旨在揭示金毛狗卵发育的细胞学机理及蕨类植物的演化关系。

## 1 材料与方法

金毛狗(*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.)孢子采自江西井冈山。孢子经 $\varphi=5\%$ 的次氯酸钠消毒,接种于改良的Knop's固体及液体培养基上。将其置于ZRX-300E智能人工气候培养箱内,培养条件为光照18 h (25℃),黑暗6 h (20℃)。约2个月,颈卵器形成。在解剖镜(Nikon SMZ1500)下选取颈卵器不同发育阶段的配子体,室温下置于 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液配制的 $\varphi=3\%$ 的戊二醛中固定6 h,经相同缓冲液冲洗后,用 $\varphi=2\%$ 的锇酸后固定2 h。系列丙酮( $\varphi=50\%, 70\%, 90\%, 100\%$ )脱水后,用Spurr's树脂渗透并包埋,经70℃聚合9 h得到包埋块。半薄切片经甲苯胺蓝染色后,用Nikon E-800观察和照相。超薄切片经醋酸铀和柠檬酸铅染色后,用Hitachi-600电镜观察和照相。

收稿日期: 2012-01-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970267);上海市教育委员会重点项目(12ZZ128)

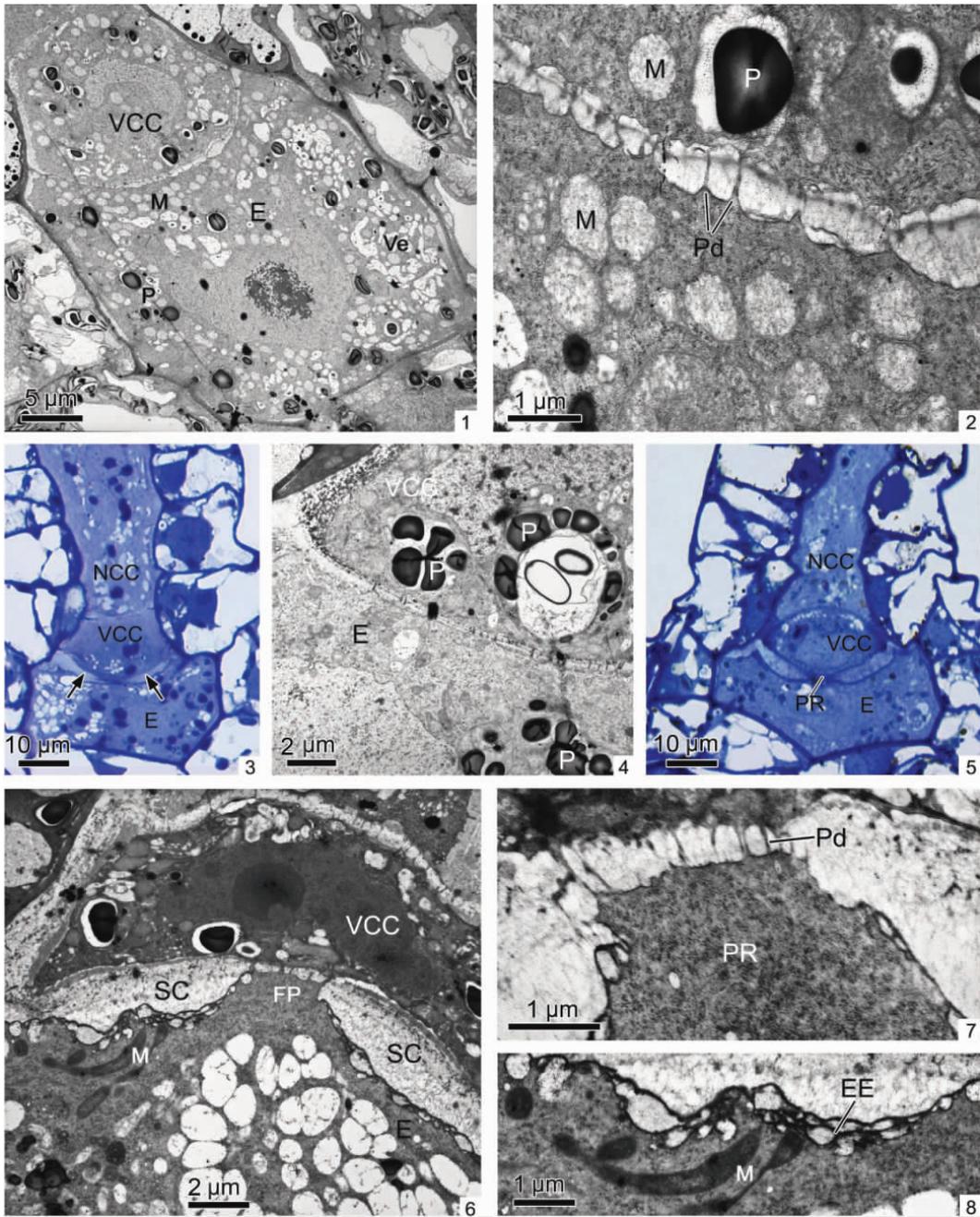
作者简介: 王戈(1986-),女,上海师范大学2009级硕士研究生。

通信作者: 曹建国(1968-),男,博士,副教授,主要从事蕨类植物生殖与发育生物学研究。E-mail: cao101@shnu.edu.cn

## 2 结果与分析

2.1 幼卵阶段 幼卵时期,颈卵器内卵细胞、腹沟细胞与颈沟细胞间通过胞间连丝联系紧密,但与壁细胞之间无胞间连丝的联系。幼卵细胞中含大量的囊泡,质体圆形,片层结构不发达,质体常含 1 至数个淀粉粒(图版 I - 1)。幼卵细胞与腹沟细胞间的细胞壁较薄,胞间连丝清晰可见(图版 I - 2),幼卵细胞上方线粒体丰富。腹沟细胞内细胞器与卵细胞类似,但囊泡不及卵细胞中的多(图版 I - 2)。

2.2 颈卵器及卵细胞发育 随着发育,卵细胞与腹沟细胞间形成分离腔(图版 I - 3,箭所示)。此时卵细胞中仍富含大量的囊泡及质体,腹沟细胞与颈沟细胞中亦可见囊泡及质体,但较卵细胞中的少;超微

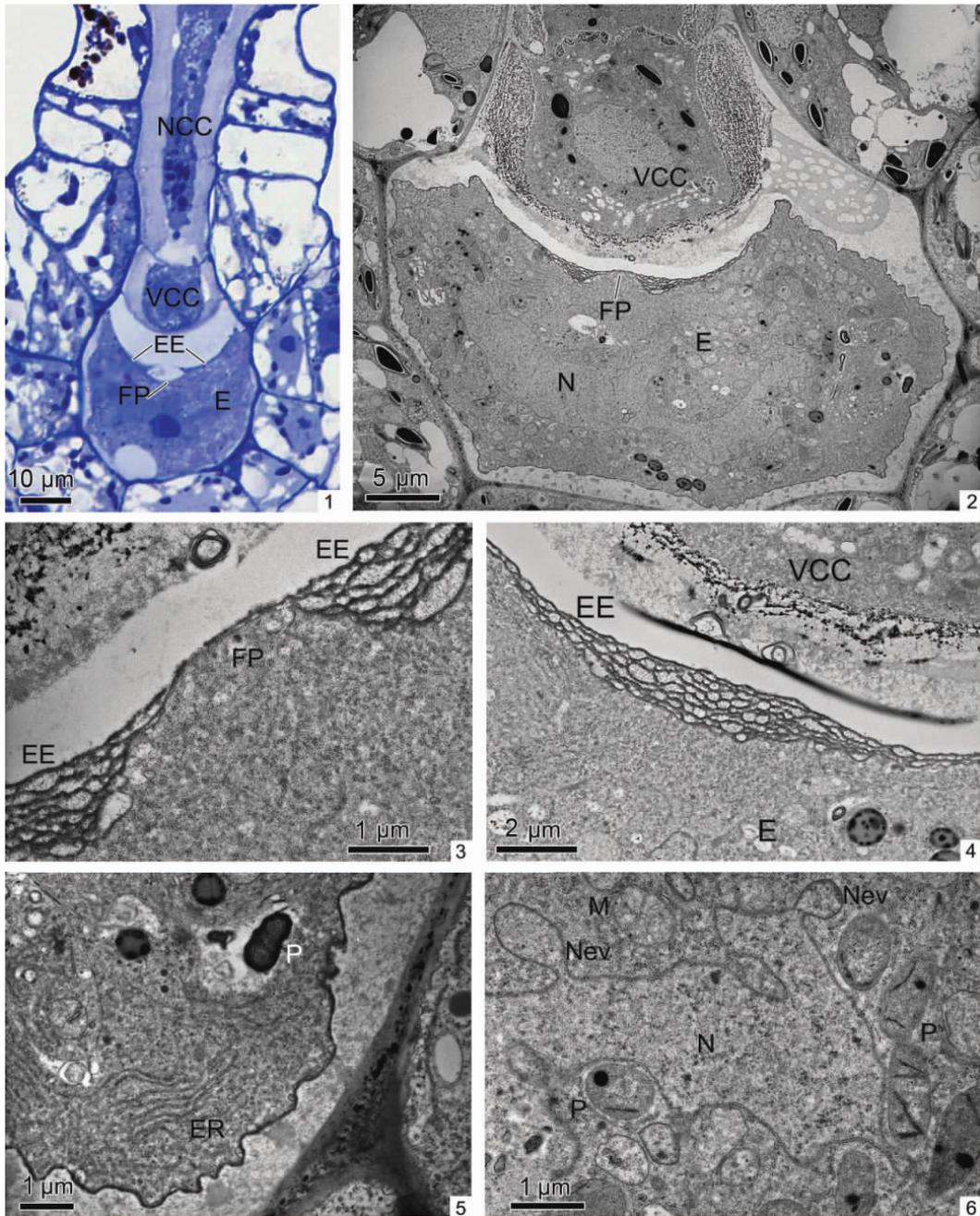


图版 I

1. 幼卵 (E) 和腹沟细胞 (VCC); 2. 幼卵与腹沟细胞通过胞间连丝 (Pd) 相连; 3. 发育卵与腹沟细胞之间开始产生分离腔 (箭); 4. 卵与腹沟细胞侧面; 5. 发育中期卵, 孔区形成 (PR); 6. 卵发育中期, 示受精孔; 7. 示孔区; 8. 示卵左上方卵膜 (EE)

结构观察显示 在发育早期 卵细胞与腹沟细胞间的胞间连丝由两端向中间逐渐消退 同时 腹沟细胞开始退化 其外围产生了一些粘性物质 (图版I-4)。发育中期 尽管卵细胞和腹沟细胞之间产生了分离腔 但二者间始终通过孔区相连 卵细胞中囊泡数量减少 腹沟细胞与颈沟细胞中囊泡数量较之前增多 腹沟细胞中囊泡主要位于细胞上方 (图版I-5); 超微结构观察显示卵细胞外侧开始形成卵膜 (图版I-6) 腹沟细胞与颈沟细胞进一步退化 但仍通过胞间连丝相连 (图版I-6), 卵细胞与腹沟细胞孔区处的胞间连丝数量减少 孔区上方的细胞壁不明显 孔区处无卵膜形成 从而形成受精孔 (图版I-6 7)。卵细胞上方的卵膜是由多层膜结构形成的 卵膜与卵细胞质膜之间可见圆形空隙 在卵膜的下方可见变为镰刀型及哑铃型的线粒体及大量的囊泡 (图版I-6 8)。

2.3 成熟卵阶段 卵发育后期 卵细胞与腹沟细胞之间分离 卵细胞核不规则 腹沟细胞与颈沟细胞进一步退化 在细胞的周围产生大量粘性物质 但在中央未退化部分仍紧密相连 (图版 II -1)。电镜观察表



图版 II

- 1. 成熟卵显微结构; 2. 成熟卵超微结构; 3. 受精孔; 4. 卵膜(EE); 5. 卵底部; 6. 核外突(Nev)

明,受精孔上方无卵膜覆盖,仅有一层细胞质膜覆盖(图版 II-2,3)。卵细胞发生轻微皱缩,与颈卵器壁细胞分离,产生分离腔,其内可见一些粘性物质;卵细胞中含有多数线粒体,质体内淀粉粒数量减少(图版 II-2)。金毛狗的卵膜十分显著,由卵细胞顶部中央向两边逐渐变薄,中央处最厚(图版 II-3,4)。卵细胞的侧面及底部被一层较薄的卵膜覆盖,近卵膜处有内质网片层,卵细胞中质体数量减少且体积变小(图版 II-5)。卵细胞核高度不规则,核表面形成了大量核外突(图版 II-6)。

### 3 讨论

分子系统学分析认为金毛狗属于树蕨类植物<sup>[2]</sup>,秦仁昌指出树蕨具有古老的起源<sup>[1]</sup>。本实验通过卵发育研究表明,金毛狗的卵体积较大,卵细胞发育早期质体中含大量的淀粉粒,Bell 曾指出原始蕨类卵细胞内含有丰富淀粉粒<sup>[8]</sup>,这可能表明金毛狗为系统演化上的原始性,然而,金毛狗在卵成熟时质体退化,内含的淀粉粒减少,这又与进化的蕨类类似。此外,金毛狗卵发育后期形成大量核外突,而核外突被认为是进化蕨类具有的一种核质互作现象,蕨(*P. aquilinum*)<sup>[4]</sup>、栗蕨(*H. incisa*)<sup>[5]</sup>、鳞毛蕨(*D. crassirhizoma*)<sup>[7]</sup>和阔鳞瘤蕨(*P. hainanensis*)<sup>[11]</sup>等较进化的薄囊蕨卵细胞内都存在较复杂的核外突,金毛狗卵细胞发育的特点表明,尽管它在系统演化上属于古老的蕨类,但在发育过程中产生了许多进化的形状,与进化的蕨类植物一样适应现代的生存环境。

金毛狗卵发育与水蕨(*C. thalictroides*)、阔鳞瘤蕨(*P. hainanensis*)、铁线蕨(*A. flabellulatum*)、蕨(*P. aquilinum*)、峨眉凤丫蕨(*Coniogramme emeiensis*)基本相同,这些蕨类的成熟卵细胞都具有发达的卵膜和受精孔<sup>[4,10,11,16]</sup>。金毛狗的卵膜为多层膜结构,卵膜的下方具有嗜锍性颗粒,这与铁线蕨(*A. flabellulatum*)<sup>[16]</sup>和水蕨(*C. thalictroides*)<sup>[10,14]</sup>相似,而与蕨(*P. aquilinum*)、栗蕨(*H. incisa*)、粗茎鳞毛蕨(*D. crassirhizoma*)不同<sup>[4,5,7]</sup>,后者卵膜为网状,卵膜的不同类型可能体现了它们之间的亲缘关系。然而,笔者对蕨类不同类群卵发生的研究仍很少,更多的工作有待进一步开展。

### 参考文献:

- [1] 吴兆洪,秦仁昌. 中国蕨类植物科属志[M]. 北京: 科学出版社,1991: 187-190.
- [2] SMITH A R, PRYER K M, SCHUETTPELT E, et al. A classification for extant ferns [J]. *Taxon*, 2006, 55(3): 705-731.
- [3] CAO J G, DAI X F, WANG Q X. Cytological features of oogenesis and their evolutionary significance in the fern *Osmunda japonica* [J]. *Sexual Plant Reproduction*, 2012, 25: 61-69.
- [4] BELL P R, MÜHLETHALER K. The fine structure of the cells taking part in oogenesis in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn [J]. *Journal Ultrastructure Research*, 1962(7): 452-466.
- [5] BELL P R. Nucleocytoplasmic interaction during maturation of the egg of the fern *Histiopteris incisa* (Thunb.) J. Smith [J]. *Annals of Botany*, 1980, 45: 475-481.
- [6] BAO W M, CAO J G, DAI S J. Ultrastructure of oogenesis in *Osmunda cinnamomea* var. *asiatica* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45: 843-851.
- [7] BAO W M, HE Q, WANG Q X, et al. Ultrastructure of oogenesis in *Dryopteris crassirhizoma* Nakai [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2005, 47: 201-213.
- [8] MYLES D G. The fine structure of fertilization in the fern *Marsilea vestita* [J]. *Journal of Cell Science*, 1978, 30: 265-281.
- [9] BELL P R. Features of egg cells of living representatives of ancient families of ferns [J]. *Annals of Botany*, 1986, 57: 613-621.
- [10] 杨耐英,曹建国,王全喜. 水蕨颈卵器的形成与发育[J]. *武汉植物学研究*, 2009, 27(6): 569-573.
- [11] 代小菲,姜楠,曹建国. 阔鳞瘤蕨颈卵器形成与卵发生的初步研究[J]. *植物研究*, 2010, 30(4): 411-415.
- [12] 曹建国,黄武杰,王全喜. 扇叶铁线蕨配子体发育及卵发生的显微观察[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(4): 702-707.
- [13] 黄武杰,曹建国,王全喜. 蕨配子体发育及卵发生的显微结构观察[J]. *植物研究*, 2011, 31(2): 159-163.
- [14] CAO J G, YANG N Y, WANG Q X. Ultrastructure of the mature egg and fertilization in the fern *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2009, 51: 243-250.
- [15] BELL P R, DUCKETT J G. Gametogenesis and fertilization in *Pteridium* [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1976, 73: 47-78.
- [16] 王戈,杨浩,王全喜,等. 峨眉凤丫蕨配子体发育及卵发生的研究[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(2): 263-269.

## Influence of Culture Media on Growth and Development of *Drynaria roosii* Seedlings

ZHANG Yin-li , LI Yang , LI Dong , SHI Lei

( Institute of Botany , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100093 , China)

**Abstract:** The fern *Drynaria roosii* were cultured on four kinds of mediums ( turf soil:sand = 1:1 , turf soil:loam:sand = 1:1:1 , loam:sand = 1:1 and vermiculite:sand = 1:1) added with or without basal fertilizer to observe the growth and development of *D. roosii* seedlings. The seedlings grew the fastest with dark green leaves and the highest fresh leaf weight when cultured on the medium turf soil + sand. The medium added with basal fertilizer improved the growth and development of the seedlings , with their root system being better than those cultured without additional basal fertilizer. The medium turf soil + sand ( 1:1) + basal fertilizer is hence optimal for *D. roosii* seedlings to grow.

**Key words:** *Drynaria roosii*; growing medium; biomass; chlorophyll

---

( 上接第 364 页)

## Development of Eggs of the Fern *Cibotium barometz*

WANG Ge , YANG Hao , WANG Quan-xi , CAO Jian-guo

( College of Life and Environment Sciences , Shanghai Normal University , Shanghai 200234 , China)

**Abstract:** The eggs of the fern *Cibotium barometz*( L.) J. Sm. were placed under light microscopy ( LM) and transmission electron microscopy ( TEM) to observe their development. At early stage of egg development the egg cell is well connected with the ventral canal cells through plasmodesmata , and contain numerous vesicles; the plastid contains obvious starch grains. With egg development , a separation cavity is formed between the egg cell and the ventral canal cell , but plasmodesmata still connects the egg and the ventral canal cell in the pore region. In the mid stage of egg development , an egg envelope is formed around the egg. In the mature stage of the egg development , the absence of egg envelope from the pore region where the egg and ventral canal cell were formerly interconnected produces a fertilization pore. The egg envelope is obviously thicker in the upper part of the egg than in the sides and lower part of the egg. The number of the vesicles is reduced in the egg cell and the plastids finally degenerate. At this stage , the nucleus produces numerous evaginations.

**Key words:** *Cibotium barometz* ( L.) J. Sm. ; egg; ultrastructure