

广西蜘蛛抱蛋的大小孢子发生和雌雄配子体发育

兰可¹, 王任翔^{1*}, 李凤英¹, 李光照²

(1. 广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004; 2. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006)
中国科学院

摘要: 对广西蜘蛛抱蛋的花做常规石蜡切片并进行观察后发现, 广西蜘蛛抱蛋的花药4室, 绒毡层腺质型, 发育后期出现双核及多核细胞。小孢子四分体左右对称型, 偶见四面体型, 胞质分裂连续型。成熟花粉为2细胞。子房3室, 中轴胎座。胚珠倒生, 双珠被, 厚珠心型。珠孔由内珠被形成。胚囊发育为变异的蓼型。

关键词: 广西蜘蛛抱蛋; 大孢子; 小孢子; 雌配子体; 雄配子体

中图分类号: Q944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)06-0755-04

Mega-microsporogenesis and the development of female-male gametophyte in *Aspidistra retusa*

LAN Ke¹, WANG Ren-Xiang^{1*}, LI Feng-Ying¹, LI Guang-Zhao²

(1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: After making a routine paraffin section on the flower of *Aspidistra retusa*, it was found that the anther was 4-sporangiate and glandular tapetum, and became binucleate or multinucleate at the later stage of its development. The microsporocyte underwent meiosis and the cytokinesis was successive which resulted in the formation of isobilateral and occasionally tetrahedral tetrads. The mature pollen grains were 2-celled type. The ovary was trilobular with axile placentation and the ovule was anatropous, biteguminous and crassinucellate. The micropyle was formed by the inner integument. The development of embryo sac was mutant Polygonum type.

Key words: *Aspidistra retusa*; megaspore; microspore; female gametophyte; male gametophyte

蜘蛛抱蛋属(*Aspidistra*)植物是广义百合科(Liliaceae)的多年生常绿草本, 常用作庭院和公园观赏植物, 民间用其根状茎入药, 有一定的开发价值。该属植物分布广泛, 在百合科中是一个较大的家族, 在铃兰族(Convallarieae)中则是最大的属。该属现知的62种中, 45种为我国所特有(占世界种数的72.6%), 其中的27种为广西所特有(占全国种数的46.6%), 是有典型中国特色和广西地方特色的分类群(李光照, 2004), 对本属的研究具有显著的中国特色和广西地方特色(吴征镒, 2002)。国内

学者在蜘蛛抱蛋属的分类学、生态学、系统学、细胞与孢粉学、形态解剖学、植物化学等方面均有系统研究(郎楷永等, 1999; 李光照等, 2000, 2002; 方鼎等, 1993, 2002; 王任翔等, 1999, 2000, 2001, 2002; 李凤英等, 2004; 陈梦菁等, 1994, 1999; 黎霜等, 2002), 但其胚胎学研究尚属空白。铃兰族植物的胚胎学研究进行得很少, 目前国内仅铃兰属的铃兰(*Convallaria majalis*)有相关的胚胎学资料(饶广远等, 1995)。因此对蜘蛛抱蛋属的胚胎学研究不但有利于其多样性保护及持续利用, 在系统进化研究方面也具有较

收稿日期: 2007-05-22 修回日期: 2007-12-06

基金项目: 教育部高等学校重点实验室西部地区高级访问学者基金; 国家自然科学基金(39660006)[Supported by the Western Scholarship Foundation of the Chinese Education Commission; the National Natural Science Foundation of China(39660006)]

作者简介: 兰可(1982-), 女, 广西柳州市人, 硕士研究生, 从事植物细胞学研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: wrx05@126.com)

重要的意义。

我们以蜘蛛抱蛋属植物广西蜘蛛抱蛋(*Aspidistra retusa*)为研究材料,系统地研究了广西蜘蛛抱蛋有性生殖过程中大小孢子的发生、雌雄配子体的发育以及胚的发育过程,旨在完善蜘蛛抱蛋属的胚胎学资料,为该属的系统分类、演化、保护生物学研究及进一步开发利用提供胚胎学证据。本文报道大小孢子发生及雌雄配子体发育的研究结果。

1 材料和方法

1.1 研究材料

实验材料广西蜘蛛抱蛋采自广西植物研究所。凭证标本:蜘蛛抱蛋组 040、043,存于广西植物标本馆(IBK)。

1.2 实验方法

从出现可见花蕾开始每间隔 3~5 d 取花并测量大小,记录与发育时期相应的外部形态特征;同时取部分花放入 FAA(50%乙醇:冰醋酸:甲醛=89:6:5)固定并保存,进行常规石蜡切片。切片厚度 6~10 μm ,爱氏苏木精染色,阿拉伯树胶封片,光学显微镜观察并摄影。

2 观察结果

2.1 雌蕊、胎座及胚珠形态

广西蜘蛛抱蛋的雌蕊由 3 个心皮组成,每个心皮的边缘内卷形成隔膜,隔膜在胎座以下与子房中央连生成 3 室,每室通常 1~2 个胚珠,在胎座以上逐渐分离形成 1 室,中轴胎座(图版 I:1,2)。子房壁及珠柄中有草酸钙针晶。成熟胚珠倒生,双珠被,珠孔由内珠被形成。胚珠为厚珠心型。珠心周缘组织最多时具 3~4 层细胞,至胚囊将近成熟时珠孔端仅剩 1 层细胞。花柱圆柱形,分布有 3 束微管束,中央具花柱道,有通道细胞。

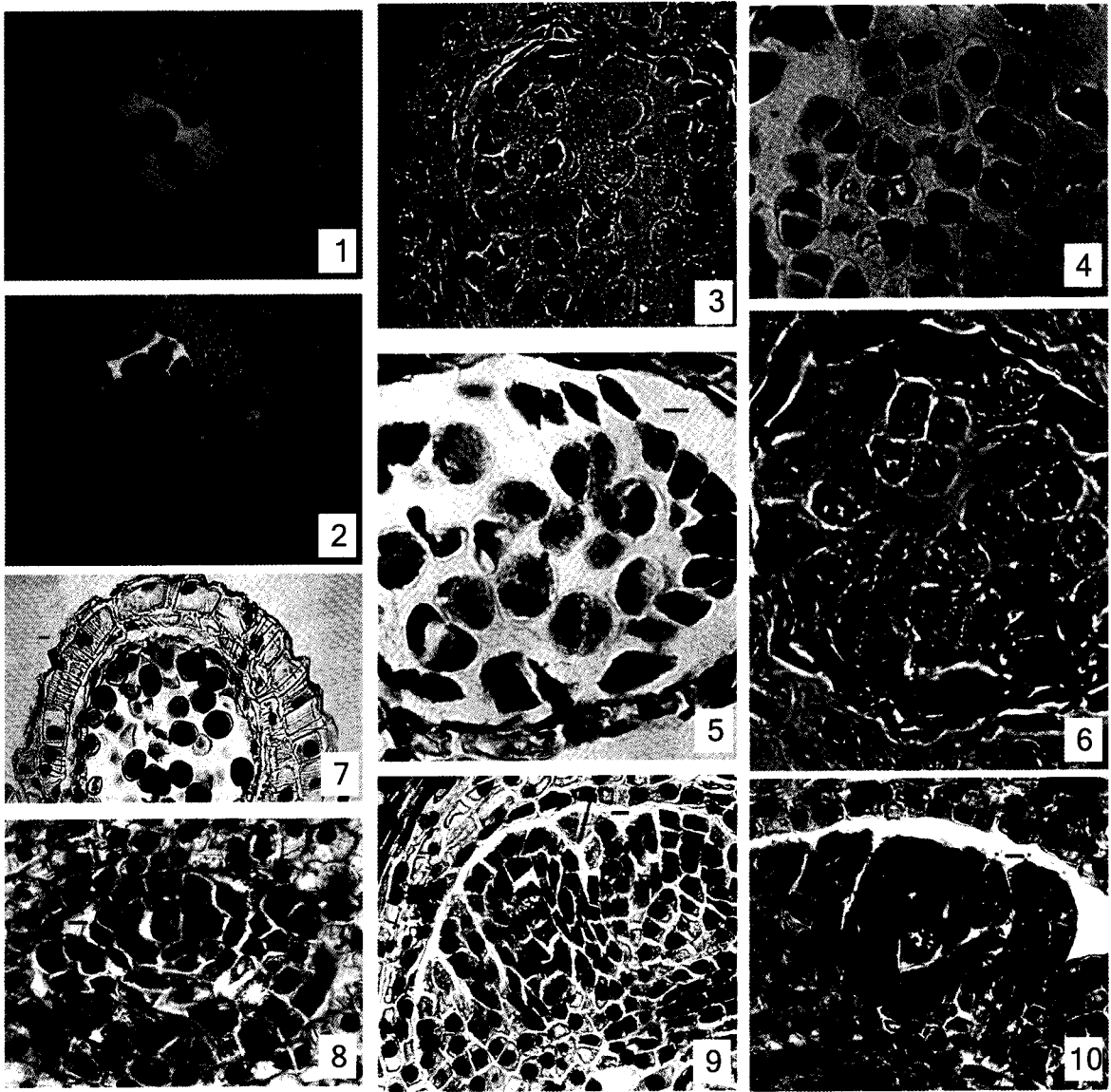
2.2 小孢子的发生、雄配子体与花药壁的发育

小孢子母细胞来源于次生造孢细胞,体积大,核大质浓,相互间排列紧密(图版 I:3)。绒毡层为腺质型。当小孢子母细胞进入减数分裂时,绒毡层有丝分裂旺盛,花药壁为 1 层表皮、1 层药室内壁、2 层中层、1 层绒毡层的 5 层细胞结构(图版 I:4)。小孢子减数分裂的方式为连续型(图版 I:4,5,6),在同一药室内,相差 1~2 个时期;在药室之间,相差 2

~3 个时期;在同一花的不同花药之间,甚至会相差一个周期。随着小孢子母细胞减数分裂进入末期,绒毡层细胞的有丝分裂也逐渐减少,绒毡层细胞体积大,染色深,花药壁结构发育充分。之后小孢子母细胞完成减数分裂,进入四分体时期。这时绒毡层中出现双核细胞。四分体多为左右对称排列(图版 I:6),偶见四面体型排列。四分体最初由胼胝质壁包裹,随着胼胝质壁的溶解,4 个小孢子彼此分开。此后绒毡层逐渐出现多核细胞并开始解体。新形成的小孢子有浓厚的细胞质和一个位于中央的细胞核,有明显的壁,体积也逐渐增大,核从中央移到细胞的一侧后进行一次有丝分裂,得到具一个大的营养细胞核一个小的生殖细胞的二细胞花粉(图版 I:7)。至花药成熟时期,绒毡层进一步解体至消失;中层通常消失,有时最外一层能保留下来并发生径向壁纤维状加厚;药室内壁细胞径向延长,径向壁大大加厚(图版 I:7)。随着药室之间壁的消失,同侧两药室连通起来。最后径向壁的张力使得壁破裂,成熟花粉散出。在小孢子后期,出现少量空瘪的花粉,为败育花粉,影响花的结实率。

2.3 大孢子发生与雌配子体发育

广西蜘蛛抱蛋的孢原细胞 1 个,核大质浓,发生于珠心表皮下方。经孢原细胞分裂,得到的造孢细胞将直接发育成为大孢子母细胞(图版 I:8);得到的初生周缘细胞将发育成为具有数层细胞的周缘珠心组织,因此为厚珠心型胚珠。内外珠被起源于珠心基部,孢原细胞时期内珠被已分化出,至大孢子母细胞时期外珠被也出现了。大孢子母细胞经减数分裂的第一次分裂后形成二分体(图版 I:9,10)。之后合点端的大孢子细胞纵向分裂,珠孔端的横向分裂,形成 T 形排列的四分体(图版 I:11,12)。四分体中,近珠孔端的两个很快就退化解体了;近合点端的两个大孢子中,将有一个发育成功能大孢子,另一个则会逐步退化解体(图版 I:13)。功能大孢子经液泡化后体积增大,形成二核胚囊(图版 I:14)。两个核移向胚囊两极后,分别分裂形成四核胚囊(图版 I:15,16),之后又分裂形成八核胚囊。其中 3 核移向珠孔端,形成 2 个助细胞和 1 个卵细胞;3 核处于合点端形成 3 个反足细胞,中央 2 核形成 2 个极核,成为成熟的胚囊(图版 I:17,18)。成熟胚囊的助细胞呈倒梨状,近珠孔端具丝状器;卵细胞圆球状并高度液泡化;反足细胞呈品字型排列。广西蜘蛛抱蛋的胚囊发育方式为变异的蓼型。



图版 I 1,2. 标尺长度 100 μm, 其余: 标尺长度 10 μm; 8-13. 上端是珠孔端, 下端是合点端; 14-18. 左端是珠孔端, 右端是合点端。1. 子房上部横切; 2. 子房下部横切; 3. 小孢子母细胞; 4. 小孢子二分体; 5. 小孢子母细胞减数分裂后期 II; 6. 左右对称型四分体; 7. 成熟二细胞花粉, → 示中层纤维状加厚; 8. 大孢子母细胞; 9. 大孢子母细胞分裂; 10. 二分体时期胚珠。

Plate I 1,2. Bar=100 μm, others; Bar=10 μm; 8-13. Micropylar end and the bottom is chalazal end. 14-18. Micropylar end and the right is chalazal end. 1. Cross section of upper part of ovary; 2. Cross section of lower part of ovary; 3. Microspore mother cells; 4. Microspore cells at the dyad stage; 5. Anaphase II of the microspore mother cells; 6. Isobilateral tetrads; 7. Bicellular pollen grain; → showing middle layer's fibrous thickening; 8. Megaspore mother cell; 9. Division of megaspore mother cell; 10. The ovule at the dyad stage.

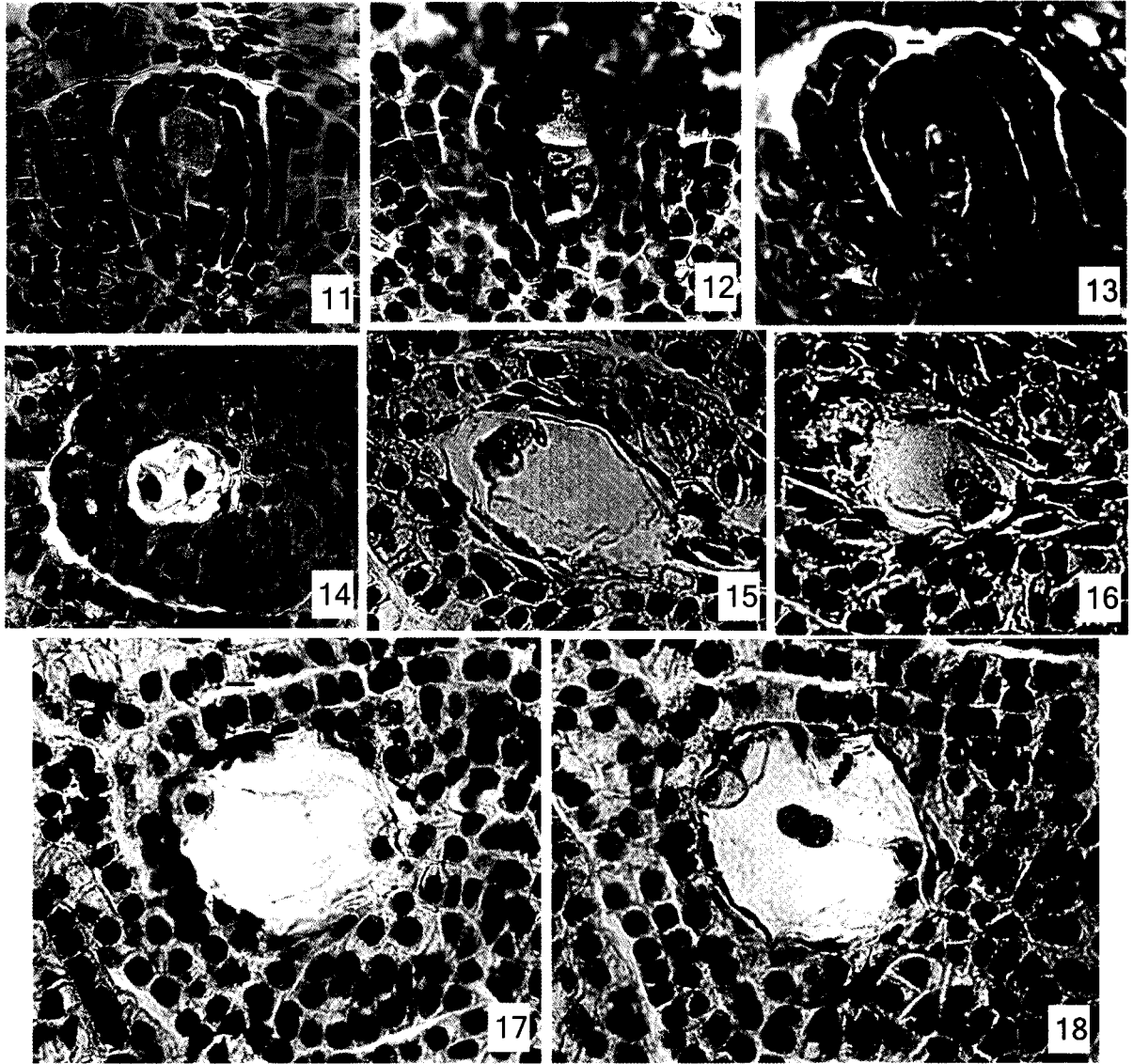
3 讨论和结论

(1) 广西蜘蛛抱蛋的花药具 4 个小孢子囊。小孢子母细胞为连续型分裂, 小孢子四分体为左右对称型排列, 偶见四面体型。成熟花粉为二细胞型花粉。花药壁绒毡层为腺质。这些性状与典型的百合科小孢子及雌配子体发育特点一致。

(2) 子房上位, 三心皮的合生子房, 心皮边缘内卷形成隔膜, 隔膜联合形成中轴胎座, 胎座以上逐渐分离。这种心皮和胎座形态在百合科中属于较为进化的性状(Eames, 1961)。

(3) 胚珠为厚珠心型, 前期直生, 成熟时倒生, 双珠被, 只由内珠被形成珠孔。胚珠形态方面具较多的原始性状。

(4) 大孢子减数分裂后形成不均等的二分体, 较



图版 II 11. 四分体时期珠孔端的两个细胞(11, 12. 为连续切片); 12. 四分体时期合点端的两个细胞; 13. 四分体时期胚珠, →示珠孔端两个退化的细胞; 14. 二核胚囊; 15. 四核胚囊, 示端珠孔 2 核(15, 16 为连续切片); 16. 四核胚囊, 示合点端 2 核; 17. 卵细胞和 1 个反足细胞(17, 18 为连续切片, 示八核胚囊); 18. 2 个助细胞, 中央的 2 个极核和 2 个反足细胞。

Plate II 11. Two cells at micropylar end(11, 12: Two successive sections, showing the tetrad of megaspores); 12. The two cells at chalazal end; 13. The ovule at the tetrad stage, →showing two degenerative cells at micropylar end; 14. Two nucleus embryo sac; 15. Two-nucleus at micropylar end (15, 16: Two successive section, showing four-nucleus embryo sac); 16. Two-nucleus at chalazal end; 17. Egg cell and a antipodal cell(17, 18: Two successive sections, showing eight nucleus embryo sac); 18. Two syergids, two polar nucleus and two antipodal cells.

大的合点端二分体再分裂后其中一个将成为功能型大孢子, 另一个逐渐消失; 而较小的珠孔端二分体将斜向分裂, 之后很快退化消失。大孢子四分体呈 T 形排列。成熟胚囊为八核胚囊。胚囊发育为变异的蓼型。从现有胚胎学资料看, 铃兰与广西蜘蛛抱蛋的小孢子发生和雄配子体发育过程基本相同。两者的大孢子发生和雌配子体发育在胎座类型、反足细胞排列及宿存时间上均一致, 并且都有 T 字型排列的四分体和位于合点端的功能大孢子。唯一差异较大的

是: 铃兰的胚胎发育类型为葱型/英地百合型, 合点端或珠孔端二分体将直接退化; 而广西蜘蛛抱蛋的胚胎发育类型为变异的蓼型, 珠孔端二分体斜向分裂之后才退化消失。两者比较广西蜘蛛抱蛋的胚胎学性状大多与铃兰属相近; 但广西蜘蛛抱蛋具有的单孢胚囊显示出其较铃兰更为原始的性状(胡适宜, 1982)。

参考文献:

李光照. 2004. 蜘蛛抱蛋属植物[M]. 南宁: 广西科学技术出版社 (下转第 860 页 Continue on page 860)

参考文献:

- 姜北,韩全斌,项伟,等. 2002. 腺花香茶菜中的三萜化合物[J]. 云南植物研究,24(5):663-666
- 姚庆生. 2002. 天然药物化学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社:257-258
- Angeh JE, Huang X, Sattler I, et al. 2007. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of four known and one new triterpenoid from *Combretum imberbe* (Combretaceae)[J]. *J Ethnopharmacol*, 110(1):56-60
- Bang YH, Chai HB, Leonardus B. S. Kardonob, et al. 2003. Cytotoxic triterpenes from the twigs of *Celtis philippinensis*[J]. *Phytochemistry*, 62:197-201
- Chikako M, Kiyomi I, Mitsuru H, et al. 2002. Novel anti-inflammatory compounds from *Rubus sieboldii*, triterpenoids, are inhibitors of mammalian DNA polymerases[J]. *Biochim Biophys Acta (BBA)*, 1596:193-200
- Charles M, Dennis A, Constantinos V, et al. 2004. Cytotoxic lupane-type triterpenoids from *Acacia melliifera*[J]. *Phytochemistry*, 65:159-164
- Chiang YM, Chang JY, Kuo CC, et al. 2005. Cytotoxic triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa*[J]. *Phytochemistry*, 66:495-501
- Chang LC, Chiang W, Chang MY. 2003. Antileukemic activity of selected natural products in Taiwan[J]. *Am J Chin Med*, 31(1):37-46
- Chen WL, Tang WD, Lou LG, et al. 2006. Pregnane, coumarin and lupane derivatives and cytotoxic constituents from *Helicteres angustifolia*[J]. *Phytochemistry*, 67:1041-1047
- Gong YH, Raj KM, Luscombe CA, et al. 2004. The synergistic effects of betulin with acyclovir against herpes simplex viruses[J]. *Antiviral Research*, 64:127-130
- Jarbas Mota Siqueira Jr, Rodrigo Rebelo Peters, Andressa Córneo Gazola, et al. 2007. Anti-inflammatory effects of a triterpenoid isolated from *Wilbrandia ebracteata* Cogn[J]. *Life Sciences*, 80(15):1382-1387
- Katerere David R, Gray Alexander I, Nash Robert J, et al. 2003. Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Com-
- bretaceae[J]. *Phytochemistry*, 63:81-88
- Kumiko M, Masato M, Hiroaki S, et al. 2005. Triterpenoids from *Cedrela sinensis*[J]. *Tetrahedron*, 61:10569-10582
- Leslie G, Wang ZS, Jan G, et al. 2005. Induction of apoptosis in prostate cancer cells by pachymic acid from *Poria cocos*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 332:1153-1161
- Machocho AK, Kiprono PC, Grinberg S, et al. 2003. Pentacyclic triterpenoids from *Embelia schimperi*[J]. *Phytochemistry*, 62:573-577
- Majekodunni OF, Labaran S, Stephen KA, et al. 2002. Larvicidal activity of extracts and triterpenoids from *Lantana camara*[J]. *Pharm Biol*, 40(8):564-567
- Preecha P, Serm S, Pongpun S, et al. 2007. Feroniellides A and B, apotriucallane triterpenes with novel cyclic acetals from *Feroniella lucida*[J]. *Tetrahedron Letters*, 48:527-530
- Reiko T, Kandasamy S, Chiharu Y, et al. 2004. Cancer chemopreventive activity of 3b-methoxyserrat-14-en-21b-ol and several serratane analogs on two-stage mouse skin carcinogenesis[J]. *Cancer Letters*, 214:149-156
- Reiko T, Toshifumi M, Yohei I, et al. 2003. Cancer chemopreventive activity of serratane-type triterpenoids on two-stage mouse skin carcinogenesis[J]. *Cancer Letters*, 196:121-126
- Ricardo RC, Elizabeth EM, Teresa RA, et al. 2004. Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*[J]. *Life Sciences*, 75:1635-1647
- Su BN, Kang YH, Rosa EP, et al. 2003. Isolation and absolute stereochemistry of coussaric acid, a new bioactive triterpenoid from the stems of *Coussarea brevicaulis*[J]. *Phytochemistry*, 64:293-302
- Samson A, Abayomi O, Lucy B, et al. 2002. Behavioural effects in rodents of methyl angolensate, a triterpenoid isolated from *Entandrophragma angolense*[J]. *Pharm Toxicol*, 91:71-76
- Tang W, Liu JW, Zhao WM, et al. 2006. Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria mediated apoptosis in lung cancer cells[J]. *Life Sciences*, 80:205-211
- Wang KW, Mao JS, Tai YP, et al. 2006. Novel skeleton terpenes from *Celastrus hypoleucus* with anti-tumor activities[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 16:2274-2277

(上接第758页 Continue from page 758)

- 胡适宜. 1982. 被子植物胚胎学[M]. 北京:人民教育出版社,80-83
- 黎霜等. 2002. 5种广西产蜘蛛抱蛋中偏诺甾体四糖皂甙含量的比较[J]. *华夏医学*, 16(2):166-168
- Chen MJ(陈梦菁). 1994. Steroidal glycosides from *Aspidistra leshanensis* (乐山蜘蛛抱蛋的甾体皂甙)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 36(7):568-571
- Chen MJ(陈梦菁), Liang SY(梁松筠). 1999. Distribution of steroidal glucosides in *Aspidistra* (蜘蛛抱蛋属)中甾体皂甙的分布[J]. *Chin Bull Bot(植物学通报)*, 16(5):610-613
- Eames AJ. 1961. Morphology of the Angiosperms[M]. New York: McGraw-Hill:440-44
- Fang D(方鼎). 1993. Two new species of *Aspidistra* (Liliaceae) from Guangxi, China(广西蜘蛛抱蛋属两新种)[J]. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, 31(2):180-183
- Fang D(方鼎), Yu LY(余丽莹). 2002. Three new species of *Aspidistra* (Liliaceae) from Guangxi, China(广西蜘蛛抱蛋属三新种)[J]. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, 42(2):159-163
- Lang KY(郎楷永), Li GZ(李光照), et al. 1999. Pollen morphology in the subtribe *Aspidistrinae* (Liliaceae, s. l.) (中国蜘蛛抱蛋属植物的分类和植物地理的研究)[J]. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, 37(5):229-232
- Li FY(李凤英), Tang SQ(唐绍清), Wang RX(王任翔), et al. 2004. The anatomy study on nutritive organs of *Aspidistra* plants in China(中国蜘蛛抱蛋属植物营养器官的解剖学研究)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 24(3):239-242
- Li GZ(李光照), Lang KY(郎楷永), Wang RX(王任翔), et al. 2000. On the trends of morphological differentiation and a new system of classification in Chinese *Aspidistra* (Liliaceae) (中国蜘蛛抱蛋属植物形态演化趋势及其新分类系统)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 20(3):201-207
- Li GZ(李光照), Tang SC(唐赛春). 2002. New taxa of *Aspidistra* from Guangxi, China(广西蜘蛛抱蛋属新分类群)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 22(4):289-291
- Rao GY(饶广远), Pan KY(潘开玉), Hong DY(洪德元). 1995. Embryological studies on *Convallaria majalis* (铃兰的胚胎学研究)[J]. *Acta Bot Sin(植物学报)* 37(12):963-968
- Wang RX(王任翔), Li GZ(李光照), Lang KY(郎楷永), et al. 1999. Cytotaxonomy of the genus *Aspidistra* from China I. Karyotypes of four species endemic to Guangxi(国产蜘蛛抱蛋属的细胞分类学研究 I. 四个广西特有种的核型)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 19(3):229-232
- Wang RX(王任翔), Li GZ(李光照), Lang KY(郎楷永), et al. 2000. Cytotaxonomy of the genus *Aspidistra* from China II(中国蜘蛛抱蛋属的细胞分类学研究 II)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 20(2):138-143
- Wang RX(王任翔), Li GZ(李光照), Lang KY(郎楷永), et al. 2001. Pollen morphology of genus *Aspidistra* studied by scanning electron microscope(蜘蛛抱蛋属花粉扫描电镜研究)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 21(2):138-142
- Wang RX(王任翔), Li GZ(李光照), Lang KY(郎楷永), et al. 2002. Pollen morphology of the genus *Aspidistra* and its systematic significance(蜘蛛抱蛋属植物花粉形态及系统学意义)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 22(2):154-159