

研究简报

用酶解方法观察卷丹的贝母型胚囊发育过程*

周 嫦

(武汉大学生物系)

OBSERVATIONS ON THE DEVELOPMENT OF FRITILLARIA
TYPE OF EMBRYO SAC IN LILIUM LANCIFOLIUM
BY MEANS OF ENZYMATIC MACERATION

Zhou Chang

(Department of Biology, Wuhan University)

关键词 胚囊(分离); 大孢子发生; 雌配子发生; 贝母型; 卷丹

Key words Embryo sac (isolation); Megasporogenesis; Megagametogenesis;

Fritillaria type; *Lilium lancifolium*

酶法分离技术作为观察胚囊发育的一种简捷技术已经应用于不少植物^[1-3,5]。然而,百合科植物迄今未见类似报道。最近,作者以卷丹为实验材料观察了大孢子发生和雌配子体发育,表明这一技术对于具有贝母型四孢子胚囊发育特点的百合属植物是同样适用的。

1. 材料和方法

实验材料为卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb),由华中农业大学谢成章教授提供,种植于武汉大学生物系实验基地。酶解试验流程与前文报道相似^[2],略有修改。用FPA固定胚珠约48小时,移入70%乙醇低温保存。临用前,经50%、30%乙醇逐步下行至蒸馏水,然后酶解。酶液包括2%纤维素酶,2%蜗牛酶,3%果胶酶和1%果胶溶酶Y-23(pectolyase Y-23)。在28℃下振荡酶解6小时左右,用吸管分散,再用蒸馏水洗涤和离心各三次。换入乳酚甘油透明,制片后用Olympus NEW VANOX AH-BS型万能显微镜的干涉差装置观察与摄影。用测微尺对细胞与核的直径进行显微测量。

本文于1987年10月12日收到。

* 中国科学院科学基金资助的课题(The project supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences)。

承华中农业大学谢成章教授惠赠实验材料,特致谢忱。

2. 观察结果

卷丹胚珠酶解较易,胚珠体细胞离散度高,能分离出较多的裸露胚囊。用此法观察了大孢子发生与雌配子体发育过程,结果与 Cooper 在亨利氏百合 (*Lilium henryi*) 的观察相近^[4]。

卷丹大孢子母细胞很大,其长宽为 $222.8 \times 84.8 \mu\text{m}$ 。呈椭圆形,轮廓清晰。细胞质均匀浓密,无明显的大液泡。细胞核也很大,长宽为 $70.7 \times 68.9 \mu\text{m}$,位于细胞中央。核内含一显著的核仁。偶而有大小不等的二核仁。减数分裂偶线期时,细胞核内出现大量细长的配对的染色体(图版 I: 1)。染色体逐渐变粗,进入粗线期(图版 I: 2)。以后染色体进一步缩短,成对的同源染色体在局部区域分开,呈现双线期的特征。此时,核膜、核仁仍清晰可见(图版 I: 3)。减数第一次分裂的核分裂完成后不伴随胞质分裂,进入游离核状态的二核时期。此时,细胞长宽为 $224.7 \times 88.4 \mu\text{m}$,而细胞核长宽则为 $37.9 \times 32.8 \mu\text{m}$,表明细胞体积增长不大,而细胞核却明显减小。核仁一般小而多,4个左右。当细胞核刚形成不久,二核之间可看到残留的纺锤丝整齐的排列(图版 I: 4)。减数第二次分裂亦不伴随胞质分裂,结果形成四个游离核,为第一次四核时期,亦即大孢子四核时期。此时,细胞长宽为 $243.5 \times 86.3 \mu\text{m}$,较前仍仅稍伸长。四个大孢子核大小相近,长宽为 $30.6 \times 29.6 \mu\text{m}$,比二核时期更小。多呈椭圆形或圆形。核仁小,约2—4个。四分体中核的排列呈线形(图版 I: 5),亦有呈菱形。大孢子发生过程至此完成。

雌配子发育阶段,四个大孢子核均参加雌配子体建成。珠孔端一个核单独分裂。合点端三个核同步分裂,并且组成共同的纺锤体。图版 I: 6 示正处于分裂中期的第一次四核时期,其两端有数目不等的染色体和大小不同的两个纺锤体。由于珠孔端一个核分裂为两个单倍体核,合点端三个核融合后分裂为两个三倍体核,结果形成第二次四核时期,即四核胚囊时期。此时胚囊长宽为 $278.0 \times 95.0 \mu\text{m}$,体积增长仍不甚显著,细胞质依然浓密。珠孔端二核较小($30.0 \times 21.2 \mu\text{m}$),多为椭圆形,偶而形状不甚规则。各含核仁1—3个。合点端二核很大($47.0 \times 38.1 \mu\text{m}$),形状很不规则。核仁很多,变动在3—12之间。四个核排列方式不同,有时是线形(图版 I: 7)有时两两成对如图版 I: 8,此后胚囊形态上明显的变化,主要是液泡增多长大,致使细胞质不断稀薄,胚囊体积随之迅速增大。再经一次细胞核分裂,即形成八核胚囊,继而开始细胞形成。图版 II: 9 所示胚囊不包括因酶解脱落的反足细胞,仍可看出胚囊体积的明显增大(其长宽为 $333.3 \times 202.0 \mu\text{m}$)。胚囊内细胞质高度液泡化。一对刚形成的助细胞位于胚囊珠孔端,卵核与之相邻,但尚未形成细胞。一侧有上极核,下极核在合点端。胚囊继续生长发育,珠孔端形成卵器。图版 II: 10 可见卵细胞及其细胞核,但助细胞不在同一光学平面。一对极核大小略有差异,各含一显著的核仁。上极核已由珠孔端移至胚囊中部。以后,一对极核在合点端靠拢(图版 II: 11),并且进一步融合成巨大的次生核。此时胚囊长宽达到 $525.2 \times 300.0 \mu\text{m}$,大部分是中央细胞,卵器相对细小(图版 II: 12)。在高倍观察时,可清晰地看到卵器结构:一对助细胞并列在珠孔端,椭圆形的细胞核位于细胞中下部,核仁明显,丰富的细胞质均匀分布于细胞内,珠孔端有丝状器。卵细胞较助细胞大,细胞核偏于合点端,内有较大的核仁,细胞质内有明显液泡(图版

II: 13)。卷丹助细胞的丝状器很发达。图版II: 14通过调焦着重显示丝状器, 它掩盖了助细胞的其它部分, 卵细胞由于不在同一光学平面, 形象较模糊。除了正常的胚囊外, 还曾观察到一些异常现象, 例如有的胚囊卵细胞退化, 助细胞异常生长, 有的胚囊卵器完全退化等等。

总之, 卷丹是一个有特色和研究价值的实验系统。用酶法分离其不同发育时期的胚囊效果良好。胚囊很大而显微图象清晰, 可以追溯贝母型的胚囊发育全过程。

参 考 文 献

- 1 李乐工, 胡适宜. 植物学报, 1985; 27(6): 561—568
- 2 周锦, 杨弘远. 植物学报, 1982; 24(5): 403—407
- 3 杨弘远, 周锦. 植物学报, 1984; 26(4): 342—346
- 4 Cooper D C. Botanical Gazette, 1935; 97: 346—355
- 5 Еналеева Н Х, и Душаева Н А. цитозмбриологическое изучение *Nicotiana glauca* L. с использо ванием метода ферментативной мацерации. В сб «Апомиксис цитозмбриология Растений» вып. 3. Изд. Саратовского Университета. 1975; 171—175

Explanation of Plates

All materials are oriented with their micropylar end upwards and chalazal end downwards.

Abbreviations: e, egg cell or egg nucleus; p, polar nucleus; s, synergid; sn, secondary nucleus

Plate I

The magnification of all materials is the same ($\times 300$).

Figs. 1-3. Megaspore mother cell in meiosis prophase I (Fig.1. zygotene, Fig.2. pachytene, Fig.3. diplotene). Fig. 4. 2-nucleate stage. Fig. 5. First 4-nucleate stage. Fig. 6. Megaspores in metaphase. One micropylar nucleus divided, showing smaller spindle and fewer chromosomes (small arrow). The three chalazal nuclei fused and divided with a bigger spindle and more chromosomes (big arrow). Figs. 7-8. Second 4-nucleate stage with two smaller nuclei at the micropylar end (small arrow) and two larger nuclei at the chalazal end.

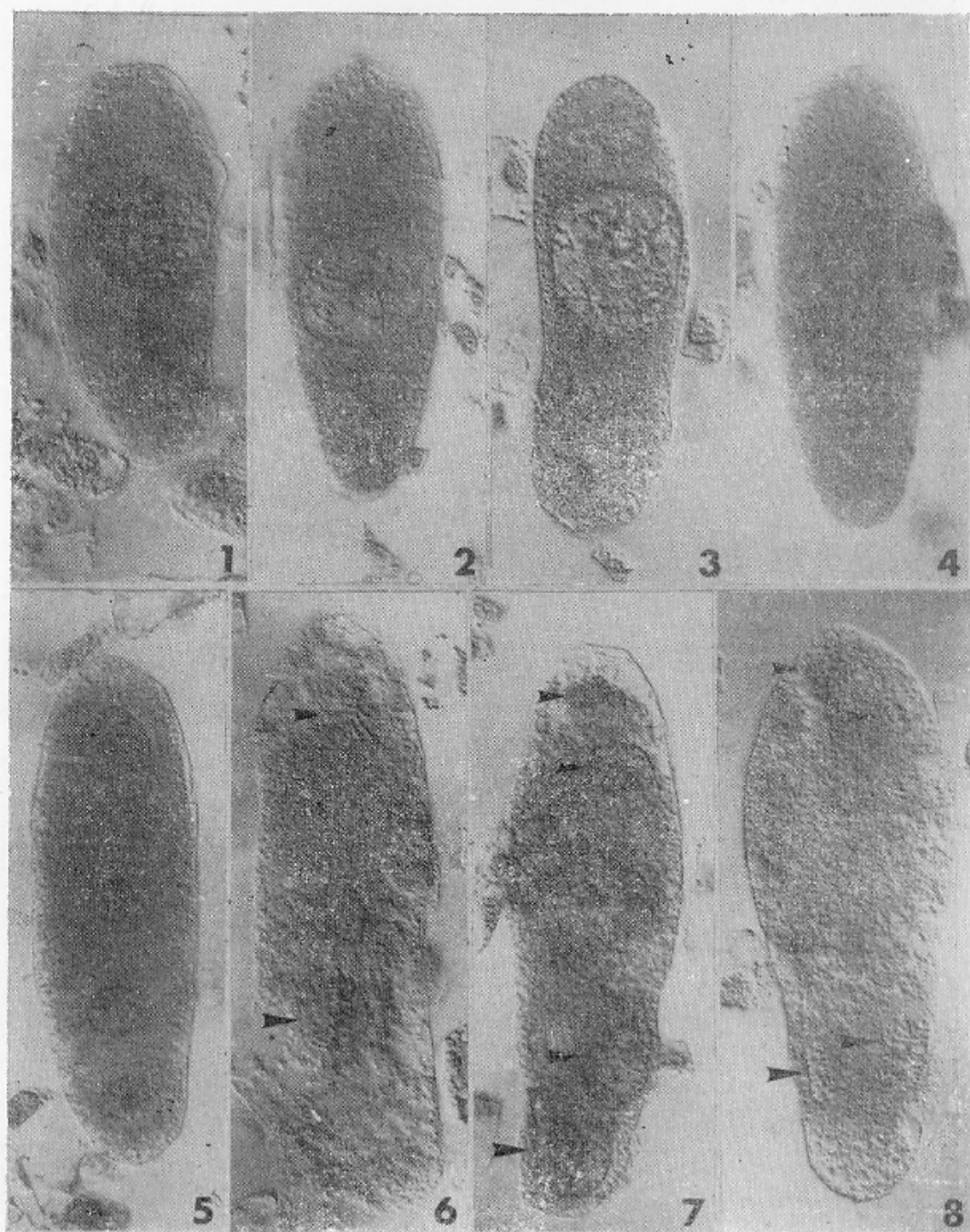
Plate II

Figs. 9-12. Embryo sacs at different stages of development and maturation; The antipodal cells had been disconnected by maceration. (Fig.9. $\times 300$; Fig.10. $\times 200$; Figs.11-12. $\times 150$). Figs. 13-14. Egg apparatus; Fig.13 shows a pair of synergids and an egg cell $\times 400$. Fig.14 shows filiform apparatus of synergids $\times 800$.

周 嫦：用酶解方法观察卷丹的贝母型胚囊发育过程

图版I

Zhou Chang: Observations on the development of *Fritillaria* type of embryo sac in *Lilium lancifolium* by means of enzymatic maceration Plate I



所有材料均按珠孔端朝上，合点端朝下方向排列，放大倍数均为 $\times 300$

1—3.大孢子母细胞减数分裂前期 I (1.偶线期, 2.粗线期, 3.双线期)。4.二核时期。

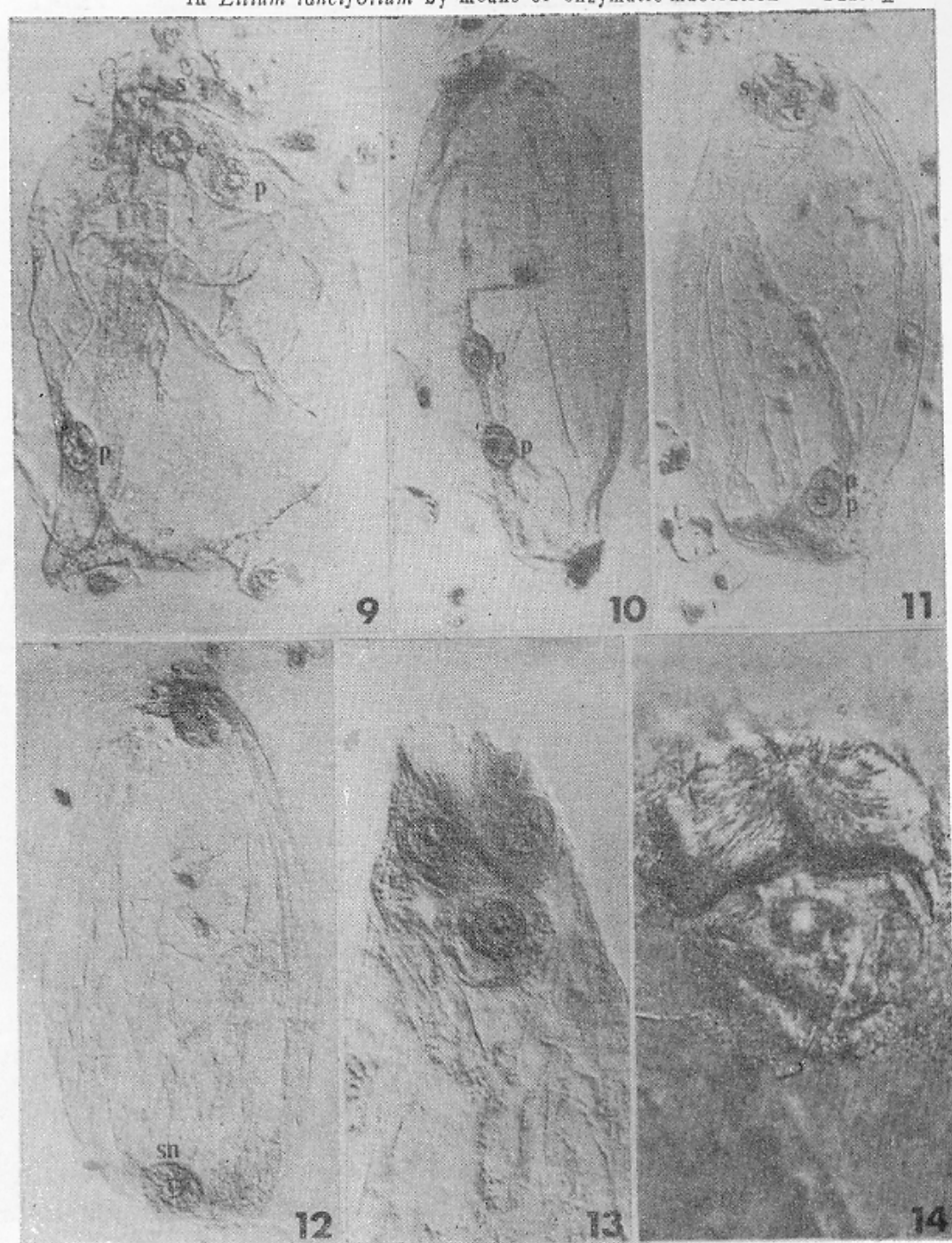
5.第一次四核时期。6.大孢子处于分裂中期，珠孔端 1 核分裂，纺锤体较小，染色体数目较少 (小箭头)；合点端 3 核形成的共同纺锤体较大，染色体数目较多 (大箭头)。

7, 8.第二次四核时期，珠孔端二核小 (小箭头)，合点端二核大 (大箭头)

周 娣：用酶解方法观察卷丹的贝母型胚囊发育过程

图版 II

Zhou Chang: Observations on the development of *Fritillaria* type of embryo sac in *Lilium lancifolium* by means of enzymatic maceration Plate II



缩写符号：e. 卵核或卵细胞；p. 极核；s. 助细胞；sn. 次生核。

9—12. 胚囊发育成熟的不同阶段，反足细胞因酶解脱落（9. $\times 300$, 10. $\times 200$, 11—12. $\times 150$ ）；
13, 14. 卵器；13. 显示一对助细胞与卵细胞 $\times 400$, 14. 显示助细胞丝状器 $\times 800$