

水蕨颈卵器的形成与发育

杨耐英, 曹建国*, 王全喜

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 主要运用电子透射显微镜技术对水蕨 (*Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn) 颈卵器形成与发育进行了研究。结果表明: 水蕨颈卵器是由原叶体分生组织内颈卵器原始细胞形成的。该原始细胞经 2 次分裂形成 3 层细胞, 上下两层发育成颈卵器颈部与底部的壁细胞, 中层为初生细胞。初生细胞是颈卵器内雌配子发生的第一个细胞, 该细胞经 2 次不等分裂形成 1 个卵细胞, 1 个腹沟细胞, 1 个双核的颈沟细胞。本研究首次阐明了水蕨颈卵器内细胞的发育顺序和特征。

关键词: 蕨类植物; 水蕨; 颈卵器; 原始细胞; 初生细胞; 中央细胞; 卵细胞

中图分类号: Q944

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)06-0569-05

Formation and Development of Archegonium in the Fern *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn

YANG Nai-Ying, CAO Jian-Guo*, WANG Quan-Xi

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

Abstract: The formation and development of archegonium in *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn has been studied mainly using transmission electron microscopy (TEM). The results revealed that archegonium in *C. thalictroides* was generated from an initial cell of gametophyte. The initial cell formed three layers by two divisions. Cells in the top and lower layers give rise to the jacket cells of archegonium. The middle cell is named primary cell, which is the first cell in oogenesis. This cell ultimately developed into a binucleate neck canal cell, a ventral canal cell and an egg cell by two unequal divisions. This research specified the sequences and characteristics of the archegonium interior cell in *C. thalictroides*.

Key words: Fern; *Ceratopteris*; Archegonium; Initial cell; Primary cell; Central cell; Egg cell

颈卵器是蕨类植物的雌性生殖器官, 其发生的转折点是由营养细胞转换为生殖细胞, 所以卵细胞早期发育的研究至关重要。但在多数研究中偏重的是幼卵到成熟卵的变化, 关于早期阶段的详细研究不多^[1,2]。Bell 等对蕨 (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) 卵发生的研究中阐述了初生细胞、中央细胞等一些参与卵发生的细胞的特征^[3]; 曹建国等对紫萁 (*Osmunda cinnamomea* var. *asiatica*) 颈卵器的发生进行了研究^[4]。但这些研究没有阐明颈卵器内细胞发生的先后顺序, 因此颈卵器发育细节不清楚。本研究利用蕨类模式植物水蕨 (*Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn)^[5,6] 为实验材料。通过光镜和透射电镜对水蕨颈卵器形成及发育进行研究, 阐明了它的发育顺序和各阶段的特征, 为蕨类植物颈卵器发育类型的划分提供依据, 也为研究其早期发育

和细胞分化的调控机制奠定形态学基础。

1 材料与方法

本实验使用的水蕨 (*Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn) 孢子是采自上海师范大学植物园。将孢子接种于改良的 Knop's 固体培养基上。在 RGX 型智能人工气候箱内培养, 白天光照 (大约 $35 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 18 h, 温度为 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 晚上黑暗培养 6 h, 温度为 $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 。孢子萌发后在两周内开始形成颈卵器。利用 Nikon-SMZ1500 体式镜观察和拍照。选取不同发育阶段颈卵器的配子体, 迅速放在 3% 的戊二醛中固定 6 h, 再在 2% 的锇酸常温下后固定 2 h, 经一系列丙酮 (30%、50%、70%、90%、100%) 脱水, 最后用 spurr 树脂包埋^[7]。包埋块先用玻璃刀切 1 ~ 2 μm 薄片, 用甲苯胺蓝染色, 进行光

收稿日期: 2009-02-10, 修回日期: 2009-03-13。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30670128); 上海市教委项目 (08YZ67)。

作者简介: 杨耐英 (1983 -), 女, 硕士研究生, 从事植物生殖与发育生物学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: cao101@shnu.edu.cn)。

镜观察,拍照。一部分包埋块用于定位。经定位后,转入超薄切片,经常规电镜染色。用 Hitachi-600 透射电镜观察并拍照。

2 观察结果

水蕨的雌配子体为心形,略不对称,成熟时在生长点下方产生颈卵器。成熟颈卵器为直立状,稍后倾,颈部由四列细胞围绕而成,高度约 60 μm ,直径约 40 μm (图版 I:1)。

2.1 原始细胞

在雌配子体生长点下方,产生颈卵器的细胞称为原始细胞,该细胞与其它营养细胞明显不同,细胞核周围的原生质浓,位于细胞中央。质体和液泡分布在其周围,所占比例较小(图版 I:2)。此后,原始细胞体积增大,细胞器不均匀分布,细胞核和非液泡细胞质位于细胞的上方,细胞下方含一个大液泡。此细胞不等分裂,形成上下两个细胞,上方细胞的原生质浓,下方细胞中液泡化(图版 I:3)。原始细胞内细胞器变化最明显的是质体,与营养细胞的质体相比体积明显缩小(图版 I:4)。上方细胞再经一次平周分裂,最终形成纵向排列的三层细胞。

2.2 初生细胞

由原始细胞分化产生的三层细胞,上方细胞垂周分裂形成颈卵器的 4 个颈部壁细胞(图版 I:5)。下方是一个含有大型液泡的细胞,它的结构类似于周围的营养细胞,将来发育成颈卵器底部壁细胞。中间的细胞为初生细胞,初生细胞横切为近方形,长约 15 μm ,宽约为 10 μm (图版 I:5,6)。细胞核较大,呈圆形,约占整个细胞体积的三分之二。与营养细胞相比,异染色质较少。核仁有一到两个,形态不规则(图版 I:5,6,8)。当初生细胞逐渐成熟时,细胞内液泡的数量减少,体积增大。由原先大量 0.5 μm 左右的小囊泡(图版 I:5)融合成多个较大的囊泡(图版 I:6)。初生细胞与上下细胞之间细胞壁较薄,有发达的胞间连丝(图版 I:7,8),而与旁侧营养细胞之间的细胞壁较厚,存在的胞间连丝很少(图版 I:9)。质体有退化现象,类囊体和淀粉粒数量都减少(图版 I:7)。

2.3 中央细胞

初生细胞成熟后进行一次不等分裂,赤道板位置偏上(图版 II:10)。上端分裂产生的颈沟细胞较小,含有一个大型的细胞核,核仁明显。下方的细胞继承了初生细胞大部分的原生质,称为中央细胞。细胞为扁平长方形,长约 30 μm ,宽约 10 μm 。细胞

核较大(图版 II:11)。中央细胞内的囊泡发育也和初生细胞很类似,刚形成时细胞内有大量较小囊泡,当它逐渐成熟时,小囊泡逐渐聚集成较大的囊泡。细胞器与初生细胞的相似。胞间连丝在中央细胞与颈沟细胞间很发达。但这两个细胞与周围营养细胞间细胞壁较厚,基本无胞间连丝。

2.4 卵细胞形成

中央细胞成熟后仍然进行不等分裂(图版 II:12),分配到上层细胞的细胞器较少(图版 II:13),而在下层细胞的底部有大量的细胞器(图版 II:14)。上层细胞发育为腹沟细胞(图版 II:15),它与颈沟细胞和卵细胞之间仍存在大量的胞间连丝(图版 II:16)。当卵细胞生成后,颈沟细胞的细胞核才开始分裂,而细胞质不分裂,形成了一个双核颈沟细胞(图版 II:15、17)。在颈沟细胞和腹沟细胞中,细胞核约占细胞体积三分之一,染色质高度异质化,有时可见两个核仁。

卵细胞接受了中央细胞大部分的细胞质,体积较大,直径一般约为 30 μm ,呈短圆柱形。细胞核为扁平的椭圆形,内部的染色质染色较浅(图版 II:18)。卵细胞与壁细胞间无胞间连丝。卵的发育是一个非常复杂的过程,有关它的研究将另文报道。

3 讨论

尽管有关蕨类植物颈卵器发育已有报道^[3,4],但这些报道都是基于光镜的观察。本研究首次从超微水平上对参与颈卵器发生的细胞进行研究,发现参与卵细胞发生的细胞包括颈卵器原始细胞、初生细胞和中央细胞。它们的共同特征是细胞为不等分裂,参与卵发生的细胞获得大部分的细胞质,而不参与卵发生的细胞则获得较少的细胞质。蕨类植物配子发生中细胞质的这种不对称分配方式最终使卵细胞获得丰富的营养物质,这对保障随后的合子发育具有重要意义。

水蕨自初生细胞至卵细胞形成的过程中质体退化,这与蕨和鳞毛蕨的情况基本相同,而与紫萁等原始蕨类明显不同,原始蕨类卵细胞内含有丰富淀粉粒^[8],这可能说明不同演化位置的蕨类对能量利用的形式不同。囊泡也是一显著的细胞器,囊泡的数量与分布可能与细胞代谢有关,水蕨初生细胞、中央细胞和卵细胞的代谢活跃,因而囊泡数量较多。而颈沟细胞自产生后的较长时间内处于不活跃状态,因而囊泡的数量很少,原有的一些囊泡被分泌到原生质外(图版 II:12),当卵细胞形成后,颈沟细胞的

细胞核才分裂形成双核的细胞。此后,颈沟细胞代谢加强,重新产生了一些囊泡(图版 II:17)。有关囊泡的来源,Bell 和 Duckett 认为蕨中央细胞中的囊泡可能来自退化的线粒体^[2,9]。在本研究中,没有发现水蕨初生细胞、中央细胞和卵细胞中线粒体的退化现象,但在初生细胞和中央细胞中有囊泡结合的现象,说明较大的囊泡是由小囊泡融合形成的,可能来自高尔基体或内质网的分泌活动。

Nishida 和 Sakuma 指出蕨类植物颈卵器内细胞核的分裂顺序是有一定规律的,他们指出水蕨科植物是在腹沟细胞产生后,颈沟细胞的细胞核才进行分裂^[10]。本研究表明当中央细胞完成有丝分裂时,颈沟细胞仍未进行核分裂。因此,我们的观察与他们的结论相一致。

Bell 和 Mühlethaler 认为蕨卵的发生是卵细胞与配子体越来越分离的过程^[3]。水蕨卵发生也经历类似过程,参与卵发生的细胞与周围的营养细胞之间无胞间连丝。当卵细胞刚形成时,颈沟细胞、腹沟细胞和卵细胞之间还有胞间连丝,三者与周围的壁细胞之间无胞间连丝。当卵细胞完全成熟时,在卵的周围还形成卵膜和分离腔。这就为卵细胞发育提供相对独立的环境,避免了配子体对其发育的影响,为以后受精作用和胚胎发育做准备。

参考文献:

- [1] Nayar B K, Kaur S. Gametophytes of homosporous ferns[J]. *Bot Rev*, 1971, 37(3): 295 – 396.
- [2] Bell P R, Jeffrey G, Duckett F L S. Gametogenesis and fertilization in *Pteridium*[J]. *Bot J Linn Soc*, 1976, 73: 47 – 78.
- [3] Bell P R, Mühlethaler K. The fine structure of the cells taking part in oogenesis in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn[J]. *Ultrastructure Res*, 1962, 7: 452 – 466.
- [4] Bao W M, Cao J G, Dai S J. Ultrastructure of oogenesis in *Osmunda cinnamomea* var. *asiatica*[J]. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(7): 843 – 851.
- [5] Schedlbauer M D. Fern gametophyte development: controls of dimorphism in *Ceratopteris thalictroides*[J]. *Amer J Bot*, 1976, 63: 1080 – 1087.
- [6] Renzaglia K S, Warne T R. *Ceratopteris*: an ideal model system for teaching plant biology[J]. *Int J Plant Sci*, 1995, 156: 385 – 392.
- [7] Cao J G, Yang N Y, Wang Q X. Observations on the formation and ultrastructure of the egg membrane in the fern *Ceratopteris thalictroides* (Parkeriaceae) [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2008, 30(5): 545 – 550.
- [8] Bell P R. Features of egg cells of living representatives of ancient families of ferns[J]. *Ann Bot*, 1986, 57: 613 – 621.
- [9] Bell P R. The cytoplasmic vesicles of the female reproductive of *Pteridium aquilinum*[J]. *Z Zellforsch*, 1969, 96: 49 – 62.
- [10] Nishida M, Sakuma T. Abnormalities in archegonia of the fern prothallia and its bearing to systematics[J]. *J Jap Bot*, 1961, 36: 142 – 152.

杨耐英等:图版 I

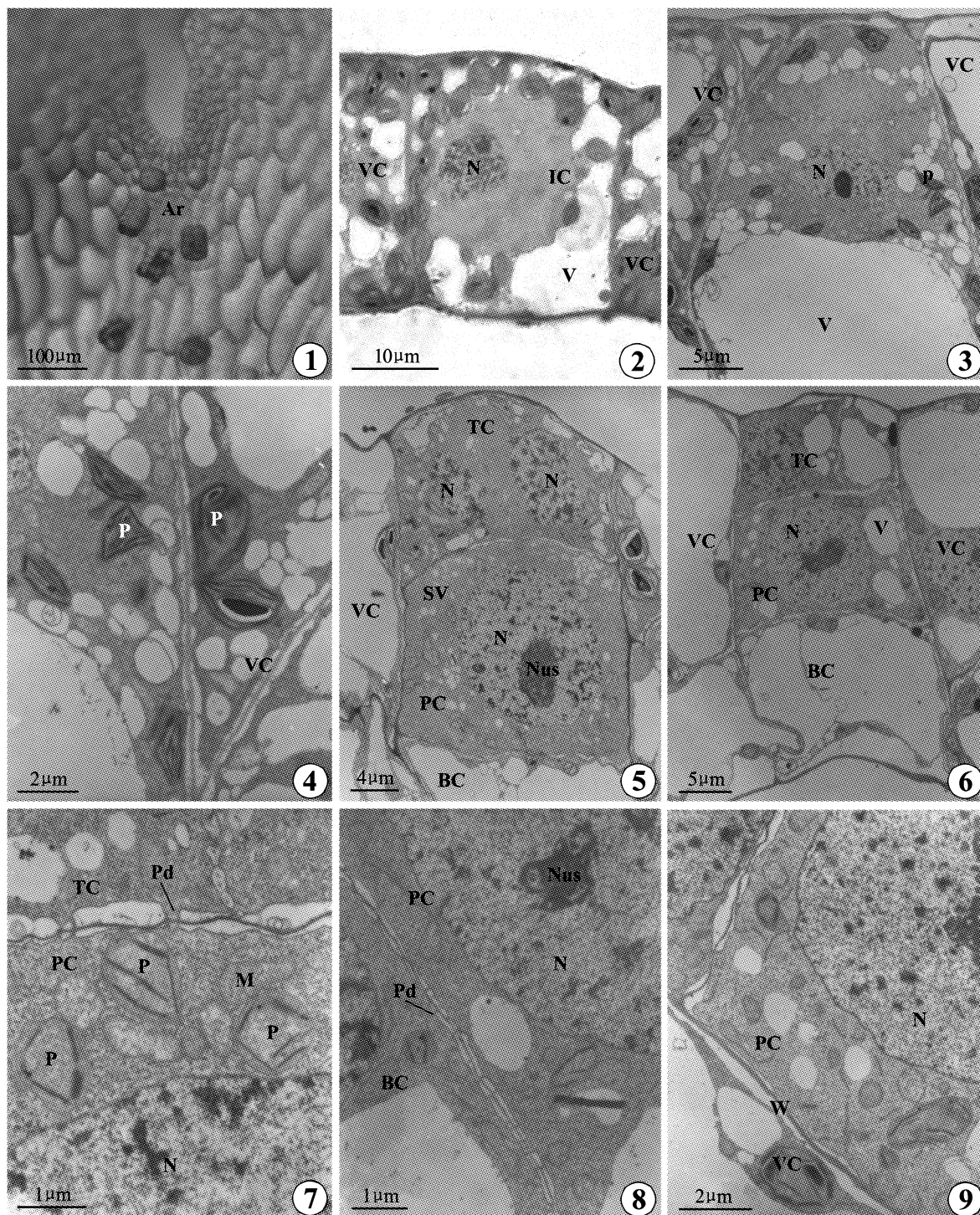
YANG Nai-Ying *et al.*; Plate I

图1~2为光镜照片,图3~9为透射电镜照片。1.配子体生长点下方的颈卵器(Ar);2.原始细胞(IC);3.原始细胞分裂成两个细胞;4.原始细胞与营养细胞(VC)中的质体(P);5,6.原始细胞分裂成三层细胞,中间为初生细胞(PC);7.初生细胞与顶端细胞(TC)之间的胞间连丝(Pd);8.初生细胞与基部细胞(BC)之间的胞间连丝;9.初生细胞与营养细胞之间有细胞壁(W),基本无胞间连丝。M,线粒体;N,细胞核;Nus,核仁;V,液泡

Figs. 1–2. Light micrographs; Figs. 3–9. Transmission electron micrographs. 1. Archegonia (Ar) beneath the notch of the gametophyte; 2. The initial cell (IC); 3. The initial cell divided into two cells; 4. The initial cell and a vegetative cell (VC) showing plastids (P); 5,6. The initial cell formed three cell layers. The middle cell was the primary cell (PC); 7. Plasmodesmata (Pd) between the initial cell and a top cell (TC); 8. Plasmodesmata between the initial cell and the basal cell (BC); 9. Cell wall (W) between initial cell and vegetative cell almost had no plasmodesmata. M, Mitochondria; N, Nuclear; Nus, Nucleolus; V, Vacuole

杨耐英等:图版 II

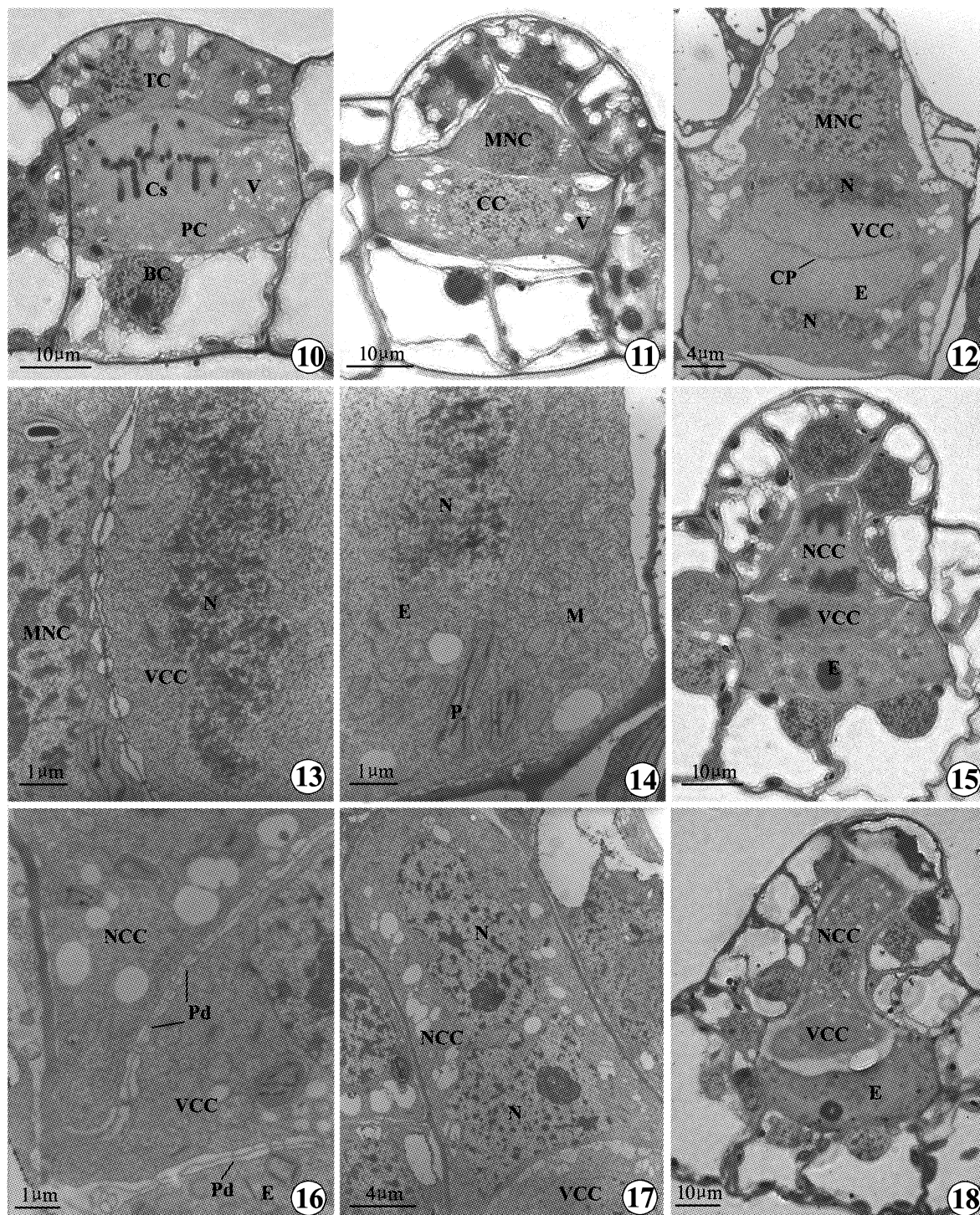
YANG Nai-Ying *et al.*: Plate II

图 10、11、15、18 为光镜照片,图 12、13、14、16、17 为透射电镜照片。10. 初生细胞分裂中期,染色体(Cs)靠近细胞上方;11. 中央细胞(CC)和单核颈沟细胞(MNC);12. 中央细胞分裂,细胞板(CP)已形成;13. 刚生成的腹沟细胞(VCC);14. 刚生成的卵细胞(E);15. 幼卵期,颈沟细胞细胞核分裂;16. 颈沟细胞、腹沟细胞及卵细胞,示胞间连丝;17. 双核颈沟细胞(NCC);18. 成熟颈卵器

Figs. 10, 11, 15, 18. Light micrographs; Figs. 12, 13, 14, 16, 17. Transmission electron micrographs. 10. Mitosis metaphase of the primary cell, the chromosomes (Cs) approach to the top of the primary cell; 11. The central cell (CC) and the mononucleate neck canal cell (MNC); 12. The cell plate (CP) was formed during mitosis of the central cell; 13. The ventral canal (VCC) cell just formed; 14. The egg (E) just formed; 15. Young egg, the nucleus of neck canal cell divided into two nucleus; 16. Plasmodesmata among the neck canal cell, the ventral canal cell and egg; 17. A binucleate neck canal cell (NCC); 18. Mature egg