

南方山荷叶大、小孢子发生与雌、雄配子体发育

黄衡宇, 龙华, 李 鹂*

(吉首大学 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000)

摘要: 首次报道了南方山荷叶大、小孢子发生和雌、雄配子体形成。主要结果如下: 花药 4 室, 花药壁发育为基本型, 由 7 层细胞组成, 由外到内依次为表皮、药室内壁、3 层中层和 2 层绒毡层; 药室内壁有带状加厚现象, 绒毡层细胞多具双核, 为腺质型绒毡层; 多孢原, 发生于表皮下; 小孢子母细胞减数分裂为同时型, 小孢子四分体多为四面体型, 少数为十字交叉形、直线形、左右对称形或“T”形; 成熟花粉粒为 2-细胞型, 偶见 3-细胞型; 成熟花粉粒呈圆形, 具单萌发孔。雌蕊 1 枚, 子房单心皮, 纵切面呈瓶状; 1 室, 边缘胎座, 具 4~5 枚发育不同步的横生胚珠。胚珠具双珠被, 厚珠心; 珠孔由两层珠被共同形成, 在一直线上或呈“之”字形。多孢原, 位于珠心表皮下。直线形四分体, 合点端的 1 个大孢子发育为功能大孢子, 胚囊发育为蓼型。成熟胚囊中, 3 个反足细胞大而明显, 但宿存时间短, 较早退化。

关键词: 山荷叶; 小孢子; 雄配子体; 大孢子; 雌配子体

中图分类号: Q944.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)01-0036-09

Genesis of microspore, megaspore and the development of male gametophyte, female gametophyte in *Diphylleia sinensis*

HUANG Heng-Yu, LONG Hua, LI Li*

(Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization (Jishou University), College of Hunan Province, Jishou 416000, China)

Abstract: The microsporogenesis & megasporogenesis and the formation of male gametophyte and female gametophyte in *Diphylleia sinensis* were first reported. The main results can be concluded as follows: anthers are tetrasporangiate and its wall development conforms to the basic type and comprises of epidermis, endothelium, three middle layers and two tapetums at the mature stage from outer to inner. The endothelium develops fibrous thickening and the tapetum was of two cell nuclei mostly, belongs to glandular type. Cytokinesis in the microsporocyte meiosis is of the simultaneous type and the microspore tetrads are mostly tetrahedral and there were still a few other types, such as dilateral, linear, isobilateral and “T” shape. Circular pollen grains are mainly 2-celled type when shed, occasionally 3-celled type, and had one aperture. Solitary pistil is consisted of only one carpel. Ovary is unilocular. Ovules are amphitropous arrangement on marginal placenta and their development is asynchrononous and crassinucellate with double integument. Micropyle is composing of inner and outer integument. Multi-archesporial comes of the first cell layer under nucellar epidermis. The tetrad of megaspores is linear shaped, with the first cell from the chalazal end being functional. The development of embryo sac belongs to the polygonum type. Three antipodal cells are big and obvious in mature embryo sac, but they are ephemeral.

Key words: *Diphylleia sinensis*; microspore; male gametophyte; megaspore; female gametophyte

收稿日期: 2008-07-10 修回日期: 2008-12-01

基金项目: 国家自然科学基金(30360009)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30360009)]

作者简介: 黄衡宇(1970-), 男, 江苏无锡人, 博士, 副教授, 主要从事植物发育生物学研究, (E-mail) hhyhy96@163.com.

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

南方山荷叶 (*Diphyllia sinensis*) 为小檗科 (Berberidaceae) 鬼臼亚科 (Podophylloideae) 一种多年生草本植物, 分布于甘肃、陕西、云南西北部、四川和湖北, 生于海拔 1 800~3 300 m 林下或山坡阴湿处 (中国科学院植物研究所, 1972)。鬼臼亚科是小檗科中仅含有山荷叶属 (*Diphyllia*)、八角莲属 (*Dysasma*)、桃儿七属 (*Sinopodophyllum*) 及足叶草属 (*Podophyllum*) 等 4 属 15 种的 1 个小类群, 在小檗科中, 这 4 个属由于具有盾状着生的叶、茎中具多数散生维管束、花不具蜜腺、浆果、含鬼臼毒素等一些特殊的特征而看作 1 个自然而相对独立的类群 (马绍宾等, 1997)。在鬼臼亚科 4 个属中, 鬼臼毒素在南方山荷叶中含量最高 (陈懿亨, 1979), 而此种化合物有明显的抗肿瘤、抗病毒活性 (杨显志等, 2002), 说明该种植物有较高的应用价值。目前, 对南方山荷叶的研究主要集中在系统学和居群生物学方面 (马绍宾等, 1997, 1999, 2000), 胚胎学研究尚未见报道。本文对南方山荷叶大、小孢子发生和雌、雄配子体形成过程进行了研究, 试图为山荷叶属植物胚胎学研究积累资料, 为其系统分类及保护生物学提供胚胎学依据, 并为该物种的引种驯化、人工栽培提供一些基础性资料。

1 材料和方法

材料采自于云南省香格里拉县仙人洞 (凭证标本: 黄衡宇 0819, 存于云南大学生命科学学院植物标本室; 标本鉴定人: 云南大学生命科学学院马绍宾教授)。取不同发育时期的花芽和开放花朵固定在改良的 FAA 固定液中 (50% 乙醇: 冰乙酸: 甲醛 = 89: 6: 5)。固定后的材料冲洗后, 用爱氏苏木精整体染色, 经 10 个不同浓度乙醇梯度脱水, 5 个不同浓度二甲苯透明和渗透, 切片石蜡包埋, Leitz 切片机制片, 切片厚度 5~8 μm , 中性树胶封片。ZEISS-Axiokop2 型显微镜下观察并摄影。

2 观察结果

南方山荷叶的花芽在开放前一年的 8 月中旬即形成, 冬天地上部分枯死, 花芽以休眠芽的形式度过冬天及早春, 次年春末夏初的 5 月底至 6 月初开始萌发。花开放时先花后叶, 伞房花序, 两性。花白色, 萼片 6 个, 呈卵圆形, 较早脱落。花瓣 6 个, 呈橢

圆形。雄蕊 6 枚, 长约 0.3 cm, 花丝长约为花药长度的一半。雌蕊 1 枚, 由单心皮组成, 子房 1 室有 4~6 个胚珠, 柱头盾状。

2.1 小孢子囊壁的形成及小孢子母细胞的产生

南方山荷叶花药具 4 个小孢子囊, 腹面的一对略小 (图版 I: 1)。孢原细胞和许多植物一样起源于花药的下表皮。孢原细胞进行平周分裂, 形成初生壁细胞和初生造孢细胞。初生壁细胞进行平周分裂, 形成外层和内层, 内、外层细胞均再进行平周分裂, 外层细胞分裂形成药室内壁和中层, 内层细胞也分裂形成中层和绒毡层 (图版 I: 2)。按 Davis (1966) 的划分, 南方山荷叶花药壁发育属于基本型, 由 7 层细胞组成, 从外到内依次为表皮、药室内壁、3 层中层及 2 层绒毡层 (图版 I: 3)。

壁细胞形成后, 最初各层细胞尚无分化, 均为长方形, 细胞中具小液泡, 细胞核小, 随着花药的生长发育遂开始有分化。最内二层细胞大, 核也大, 原生质浓厚, 细胞较规则, 随着其细胞的生长, 原生质不断增多, 充满整个细胞, 细胞核也增大, 形成绒毡层; 至小孢子母细胞形成时, 绒毡层细胞体积已达最大值, 多具双核 (图版 I: 3); 小孢子四分体时期, 绒毡层细胞开始退化, 细胞切向伸长, 核弥散 (图版 I: 4); 到单核小孢子时期, 该层细胞开始彼此分离, 大液泡出现在细胞质里, 细胞核逐渐消失; 二核花粉粒形成后绒毡层完全消失 (图版 I: 5)。小孢子发育过程中, 绒毡层细胞始终维持在原位, 通过细胞内表面分泌各种物质供给小孢子发育。在形态上表现为: 原生质体在原位融合成一圈, 最后完全解体被小孢子吸收。因此南方山荷叶的绒毡层属于腺质绒毡层。

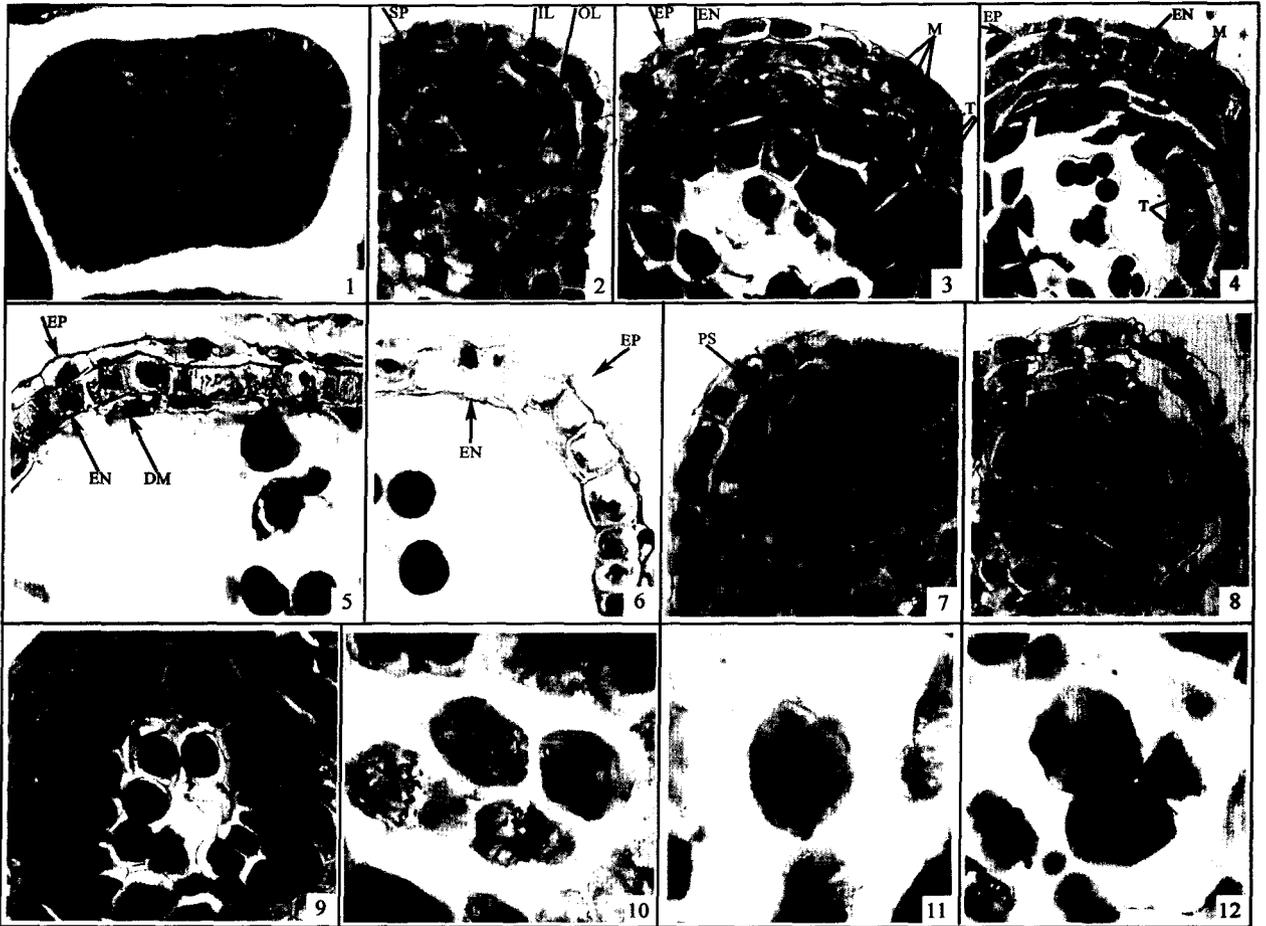
花药的最外一层, 即表皮, 细胞层只进行垂周分裂; 表皮细胞随着花药的长大而伸展, 拉得又扁又长, 细胞之间最后失去联系, 当花药成熟时, 表皮已是一些凋落的碎屑 (图版 I: 6)。

表皮下一层细胞随着细胞的增大, 原生质越来越稀薄, 逐渐分化为纤维层也就是药室内壁, 小孢子阶段该层细胞体积增大, 径向壁与切向壁均加长, 变为方形或长方形 (图版 I: 5); 花药成熟时, 该层细胞的内切向壁发生径向带状加厚, 此时表皮细胞只残留一些不连续的碎片 (图版 I: 6)。

在药室内壁与绒毡层之间的 3 层细胞, 细胞小, 核大, 原生质浓厚, 是为中层 (图版 I: 3)。当其形成不久, 营养物质即被其它细胞吸收利用; 小孢子母细

胞形成时,中层细胞已发生变化,贮藏物质减少,细胞变得扁平;小孢子四分体时期,该层细胞加速退化

(图版 I :4);散粉时该层细胞仅余一些细胞残迹(图版 I :5,6)。



图版 I ANT:反足细胞; C:中央细胞; DM:退化中层; EN:药室内壁; EP:花药壁表皮; IL:内层; II:内胚珠; OI:外胚珠; OL:外层; M:中层; PC:周缘细胞; PS:初生造孢细胞; SC:造孢细胞; SP:次生造孢细胞; SY:助细胞; T:绒毡层。1. 幼小花药的横切面,示四个小孢子囊 $\times 400$; 2. 初生壁细胞产生的外层与内层分别进行平周分裂形成药室内壁、中层及绒毡层 $\times 400$; 3. 小孢子母细胞时期的花药壁 $\times 400$; 4. 四分体时期的花药壁 $\times 400$; 5. 2-细胞花粉粒早期的花药壁 $\times 400$; 6. 散粉时期的花药壁 $\times 400$; 7. 初生造孢细胞(\uparrow) $\times 400$; 8. 次生造孢细胞 $\times 400$; 9. 小孢子母细胞 $\times 400$; 10. 减数第一次分裂前期 $\times 1\ 000$; 11. 减数第一次分裂中期 $\times 1\ 000$; 12. 减数第一次分裂后期 $\times 1\ 000$ 。

Plate I ANT: Antipodal cells; C: Central cell; DM: Degenerate middle layer; EN: Endothelium; EP: Epidermis; IL: Inner layer; II: Inner Integument; OI: Outer Integument; OL: Outer layer; M: Middle layer; PS: Primary sporogenous cell; SP: Secondary sporogenous cell; SY: Synergid; T: Tapertum. 1. Transection of a young anther, showing teasporangiate $\times 400$; 2. Outer and the inner layers from primary parietal cell dividing undergo periclinally dividing form endothelium, middle layers and tapetums $\times 400$; 3. Anther wall in the stage of microspore mother cell $\times 400$; 4. Anther wall in the stage of microspore tetrads $\times 400$; 5. Anther wall in the early stage of 2-celled pollen $\times 400$; 6. Anther wall of the pollen spread $\times 400$; 7. Primary sporogenous cell(\uparrow) $\times 400$; 8. Secondary sporogenous cell(SP) $\times 400$; 9. Microspore mother cell $\times 400$; 10. Microsporocyte at the prophase I of meiosis $\times 1\ 000$; 11. Microsporocyte at the metaphase I of meiosis $\times 1\ 000$; 12. Microsporocyte at the anaphase I of meiosis $\times 1\ 000$ 。

由孢原细胞衍生的造孢细胞形状多种,多边形常见,也有不规则的形状(图版 I :7,8)。在分裂生长过程中,细胞及其核的体积均增大,核仁大而明显,原生质浓厚,以后随着细胞原生质的增多和核的增大,细胞逐渐变为圆形,即为小孢子母细胞(图版 I :9)。

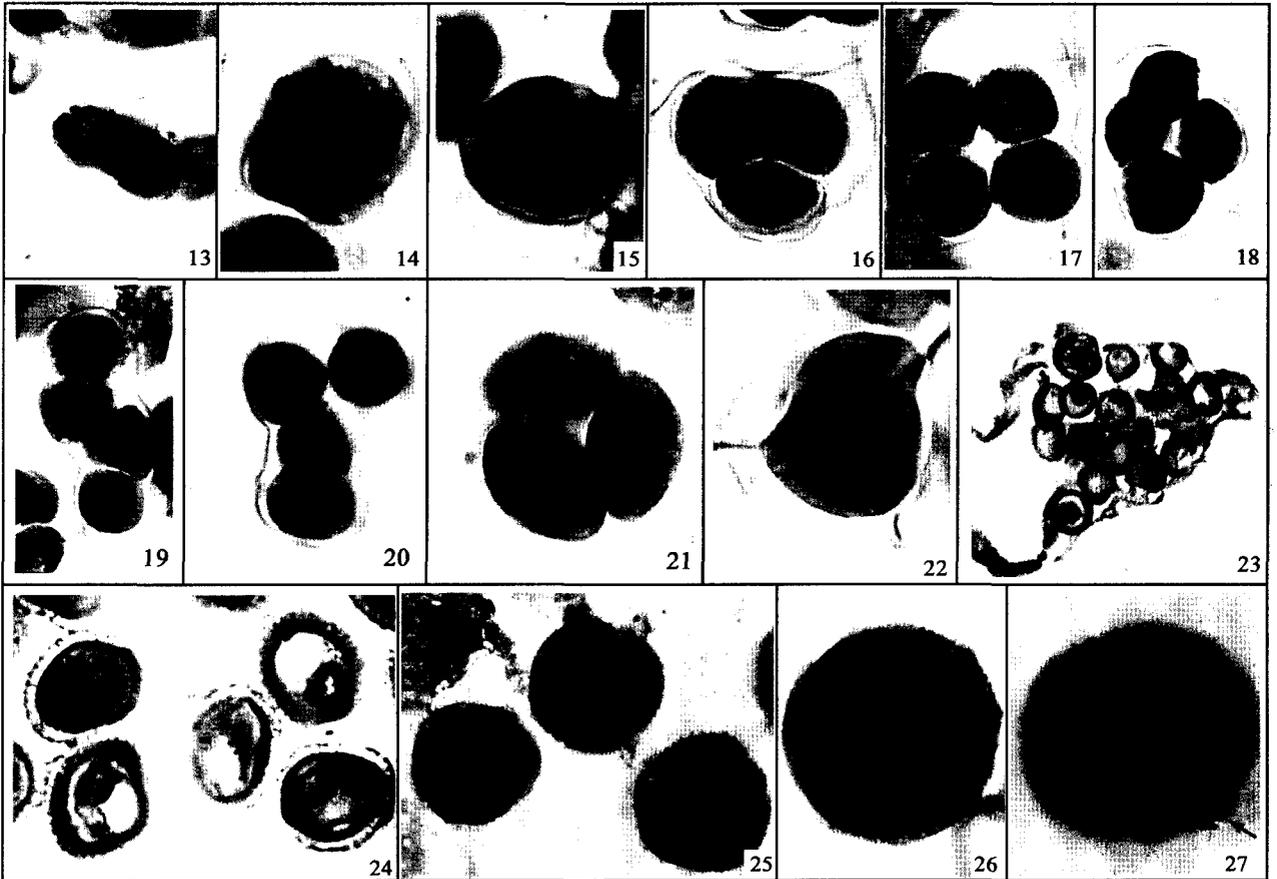
小孢子母细胞继续发育,由多边形逐渐变成圆球形,彼此分离进入减数分裂期(图版 I :10)。小孢

子母细胞减数分裂各时期特征明显,其染色体变化过程与一般被子植物相同,持续时间也较长(图版 I :11,12;图版 II :13,14,15)。减数分裂末期 II 时,四组染色体各到达一极后,形成四个子核,各子核之间,胼胝质作向心伸入,把四组染色体同时分割成四个子细胞,形成四分体(图版 II :16)。胞质分裂为同时型,但有时也观察到少数小孢子母细胞减数分裂

I 结束后在两子核之间形成一条异形沟(heterotypic furrow)(Johri, 1984)的现象,使其具有二分体的形态。四分孢子的排列方式多为四面体形(图版 II: 16),少数为左右对称形(图版 II: 17)、十字交叉形(图版 II: 18)、直线形(图版 II: 19)及“T”形(图版 II: 20)。当胼胝质溶解时,首先是小孢子游离面先

溶解,然后是小孢子接触面溶解(图版 II: 21)。胼胝质壁溶解后,游离出 4 个小孢子。

小孢子母细胞的减数分裂在同一花药的 1 个药室中基本同步或相差 1~3 个时期,不同药室之间可相差 2~4 个时期。同一花药不同药室之间或同一药室中,在四分体以后,则表现出完全同步性。



图版 II 13. 减数第一次分裂末期 $\times 1\ 000$; 14. 减数第二次分裂后期 $\times 1\ 000$; 15. 减数第二次分裂末期 $\times 1\ 000$; 16. 四面体形四分体 $\times 1\ 000$; 17. 左右对称形四分体 $\times 1\ 000$; 18. 十字交叉形四分体 $\times 1\ 000$; 19. 直线形四分体 $\times 1\ 000$; 20. “T”形四分体 $\times 1\ 000$; 21. 小孢子四分体晚期 $\times 1\ 000$; 22. 刚从四分体中游离出来的小孢子 $\times 1\ 000$; 23. 败育的小孢子 $\times 400$; 24. 单核靠边时期的小孢子 $\times 1\ 000$; 25. 成熟的 2-细胞花粉粒 $\times 1\ 000$; 26. 3-细胞花粉粒 $\times 1\ 000$; 27. 单萌发孔萌发(\uparrow) $\times 1\ 000$ 。

Plate II 13. Microsporocyte at the telophase I of meiosis $\times 1\ 000$; 14. Microsporocyte at the anaphase II of meiosis $\times 1\ 000$; 15. Microsporocyte at the telophase II of meiosis $\times 1\ 000$; 16. Tetrahedral microspore tetrads $\times 1\ 000$; 17. Isobilateral microspore tetrads $\times 1\ 000$; 18. Dilateral microspore tetrads $\times 1\ 000$; 19. Linear microspore tetrads $\times 1\ 000$; 20. “T”shape microspore tetrads $\times 1\ 000$; 21. Terminal microspore tetrad $\times 1\ 000$; 22. Microspore had just formed microspore tetrads $\times 1\ 000$; 23. Abortive microspore $\times 1\ 000$; 24. Uninucleate and side microspore $\times 1\ 000$; 25. Mature 2-celled pollen $\times 1\ 000$; 26. 3-celled pollen $\times 1\ 000$; 27. One aperture bourgeoning $\times 1\ 000$ (\uparrow).

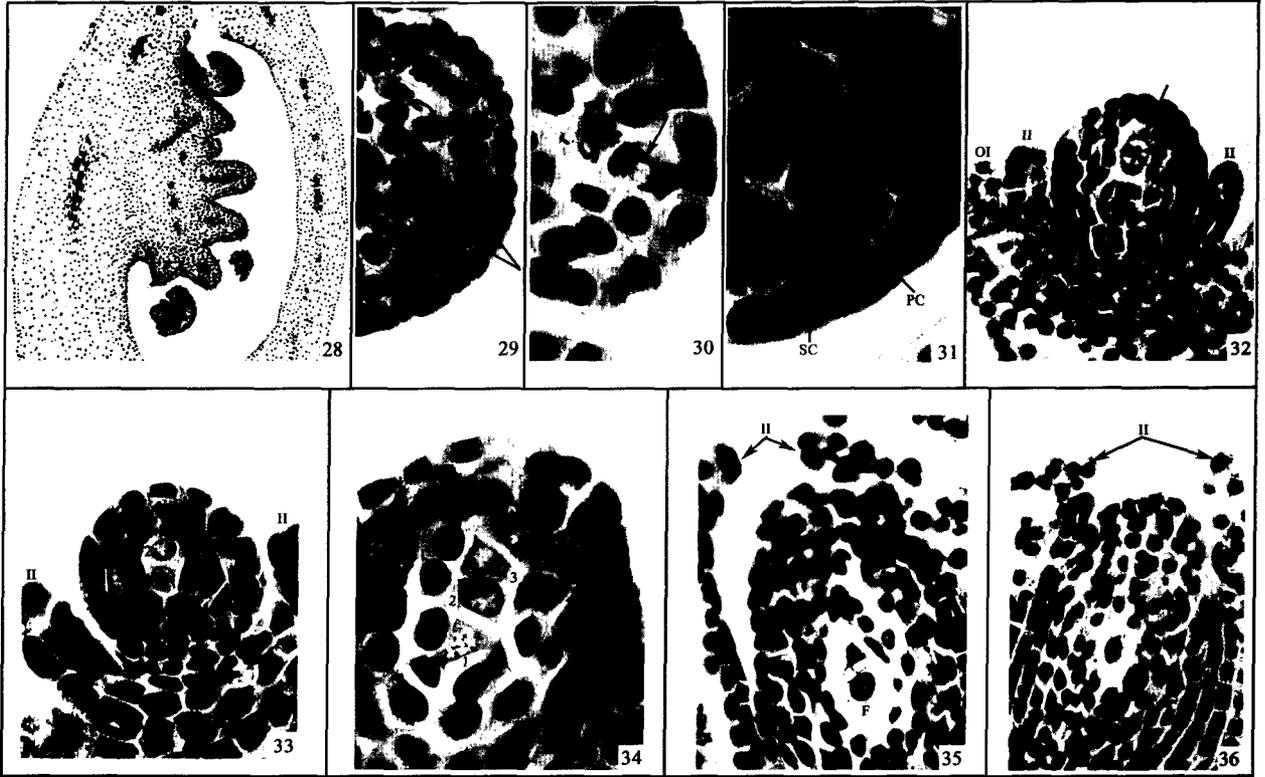
2.3 雄配子体形成

南方山荷叶四分体持续时间较长,最后由于胼胝质壁的溶解,4 个小孢子彼此分开,释放到充满绒毡层分泌物的药室中。这时花药壁有一定的收缩,尚未加厚,4 个小孢子的形状不规则,胞质中无明显液泡,细胞随后变为圆球状(图版 II: 22)。在这一时

期观察到一些只有细胞壁的空瘪小孢子的异常发育情况,推测为花粉败育(图版 II: 23),同时也观察到发育异常的巨型花粉。以后,由于小孢子不断从绒毡层或自身降解物质中吸收营养,细胞壁逐渐加厚,体积增大,胞质内出现大液泡,核被挤向一边,形成单核靠边期(图版 II: 24)。随后,核在靠近壁的地方

进行一次有丝分裂,形成2-细胞花粉粒(图版Ⅱ:25)。南方山荷叶的成熟花粉粒为2-细胞型,但也有少数花粉粒在散粉前生殖核进行有丝分裂形成2

个精子,成为3-细胞型花粉粒(图版Ⅱ:26)。此外,观察到多数花粉粒在散粉前即从单萌发孔中萌发出花粉管(图版Ⅱ:27)。



图版Ⅲ 28.边缘胎座 $\times 50$; 29.示大孢子多孢原(\uparrow) $\times 1000$; 30.大孢原细胞平周分裂(\uparrow) $\times 1000$; 31.示周缘细胞(PC)与造孢细胞(SC) $\times 1000$; 32.大孢子母细胞(\uparrow)及内、外珠被(II,OI) $\times 400$; 33.大孢子二分体(1,2) $\times 400$; 34.直线形大孢子四分体(1,2,3,4) $\times 1000$; 35.合端大孢子成为功能大孢子(F) $\times 400$; 36.单核胚囊及内珠被(II) $\times 200$ 。

Plate III 28. Showing marginal placentation $\times 50$; 29. Female multi-archesporial cells(\uparrow) $\times 1000$; 30. Female archesporium is dividing(\uparrow) $\times 1000$; 31. Showing parietal cell(PC)and sporoginous cell(SC) $\times 1000$; 32. Megasporocyte and the integuments (II,OL) $\times 400$; 33. Megaspore dyad(1,2) $\times 400$; 34. Linear tetrad of megaspore(1,2,3,4) $\times 1000$; 35. First megaspore from the chalazal end functional(F) $\times 400$; 36. Inner integuments(II) at the stage of uninucleate embryo sac $\times 200$.

2.4 大孢子发生

南方山荷叶单心皮单室雌蕊纵切面上为瓶状,在心皮的腹缝线处产生边缘胎座,并发生4~6个胚珠(图版Ⅲ:28)。同一子房内的不同胚珠一般不同步发育。雌蕊分化初期,在胎座上形成胚珠原基,原基形成后,进一步发育,其前端形成珠心,基部发育为珠柄。珠心表皮下1~2个细胞体积增大,是为孢原细胞(图版Ⅲ:29)。这类细胞区别于珠心的其它细胞,它们的体积大,细胞质浓厚且具有显著的细胞核,染色质弥漫在细胞核内;此时,内、外珠被尚未发生。

孢原细胞平周分裂(图版Ⅲ:30),形成1个周缘细胞和1个造孢细胞(图版Ⅲ:31),造孢细胞进一步发育为大孢子母细胞(图版Ⅲ:32)。此时内、外珠被

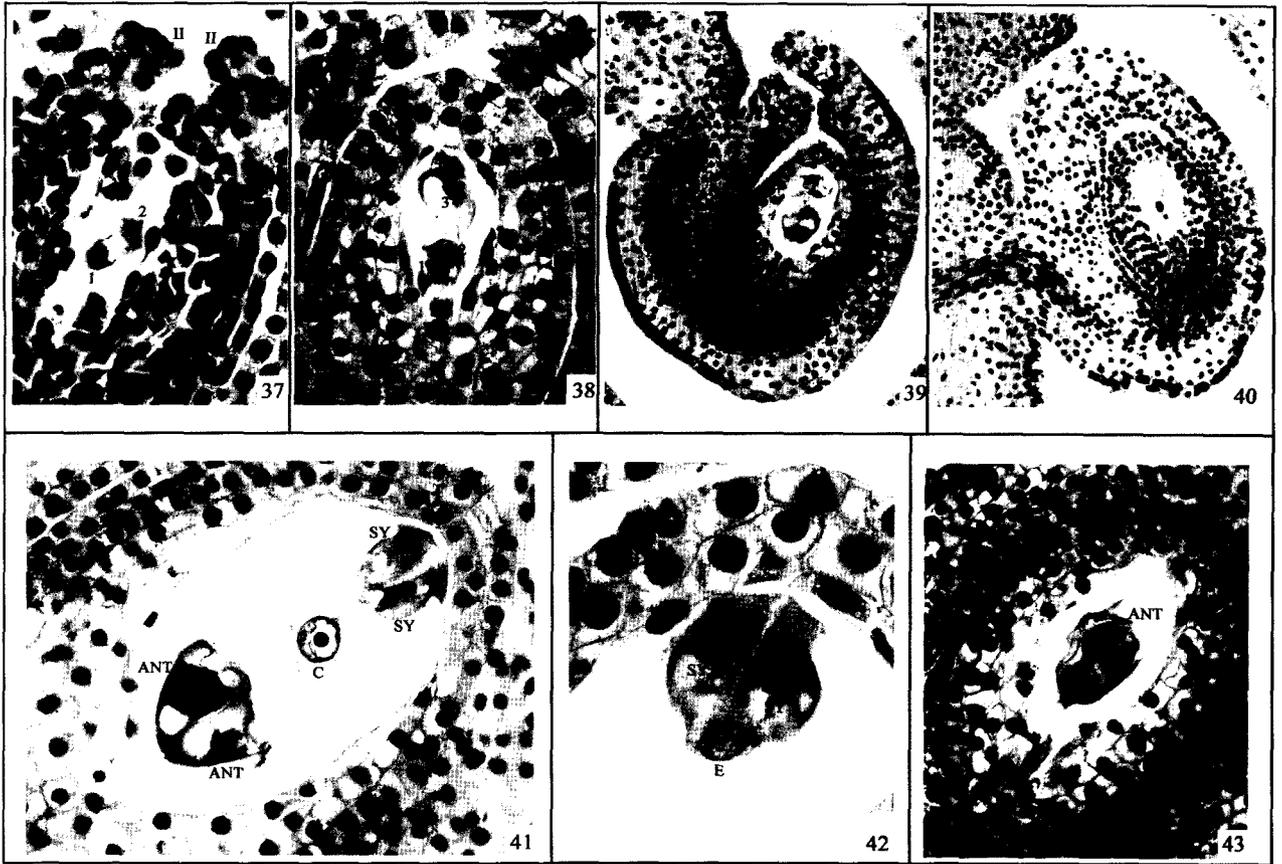
在珠心基部两侧表皮的一定部位发生(图版Ⅲ:32)。

大孢子母细胞进一步增大,不久便进入减数分裂时期。第一次减数分裂后期,两组染色体到达两极,核膜出现,形成新核,紧接着在两核间出现细胞壁,形成大孢子二分体(图版Ⅲ:33)。至大孢子二分体阶段,外珠被生长不及内珠被,两层珠被均由多层细胞组成,前者具3~4层细胞,后者具2~3层细胞。周缘珠心组织由周缘细胞和珠心表皮细胞共同产生,二分体时期已具3~4层周缘组织。因此南方山荷叶属于厚珠心胚珠。

大孢子二分体继续第二次减数分裂,产生一直线形排列的大孢子四分体,这4个细胞体积较大,呈方形(图版Ⅲ:34)。外珠被发生后,由于生长较快,

到大孢子四分体时期已和内珠被平齐,达珠心长度的 2/3 处。不久,珠孔端 3 个大孢子开始退化,退化

顺序多为珠孔端向合点端依次进行,合点端大孢子继续发育成为功能大孢子(图版 III:35)。胚囊发育



图版 IV 37. 二核胚囊及内珠被(II)×200; 38. 四核胚囊×400; 39. 内、外珠被共同形成“之”字形珠孔×200; 40. 横生胚珠×100; 41. 八核胚囊×400; 42. 组成卵器的 1 个卵细胞和两个助细胞呈“品”字形排列×1 000; 43. 示合点端的 3 个反足细胞×400。

Plate IV 37. Inner integuments(II) at the stage of 2-nucleated embryo sac×200; 38. 4-nucleated embryo sac×400; 39. “zig-zag” micropyle is formed by both the inner and the outer integuments×200; 40. Amphitropous ovule×100; 41. 8-nucleated embryo sac×400; 42. Mature egg apparatus which comprise of an egg cell and two synergids is triangular shape arrangement×1 000; 43. Three antipodal cells at the chalazal end×400.

为典型的蓼型。

2.5 雌配子体形成

功能大孢子刚形成时,细胞核位于合点端,细胞中央有一大液泡,细胞质均匀分布于细胞周边。不久,该细胞体积迅速增大,合点端的细胞质内出现一液泡,核逐渐移向细胞中央,形成单核胚囊(图版 III:36)。此时,内、外珠被生长迅速,同时达到珠心长度的 3/4 处(图版 III:36)。

单核胚囊经一次核分裂形成二核胚囊。刚形成时,两个核位于胚囊中央稍偏合点端,两端液泡明显;以后,胚囊腔迅速增大,二核分别向两极移动,两核间出现一明显液泡(图版 IV:37)。此时,外珠被生长超过内珠被,几乎包裹了内珠被与珠心(图版 IV:37)。

二核胚囊中的两个核分别向两极移动。到达两极后,在胚囊体积增大的同时进行一次有丝分裂,形成四核胚囊(图版 IV:38)。其中两个核位于胚囊的珠孔端,两个核位于合点端,中间被一大液泡隔开,合点端亦为一些小液泡所占据,珠孔端开始出现小液泡。此时,内、外珠被停止生长,共同形成一直线型珠孔或“之”字形珠孔(图版 IV:39)。胚珠处于横生的位置(图版 IV:40)。

不久,位于胚囊两端的 4 个核再分别进行一次有丝分裂,形成八核胚囊(图版 IV:41)。随后,很快发生胞质分裂,珠孔端的 4 个核形成卵器和上极核;合点端 3 个较大的核形成反足细胞,较小的核成为下极核。成熟胚囊阶段,组成卵器的 2 个助细胞和

1 个卵细胞在珠孔端呈“品”字形排列(图版 IV:42)。形成中央细胞的 2 个极核在形成后不久便融合,形成一次生核;以后次生核逐渐移向胚囊的合点端,与反足细胞相靠近。合点端的 3 个反足细胞大而显著,在胚囊纵切面上几乎占胚囊腔的 1/2,其核明显,在细胞内占据一半以上的空间,细胞质浓厚,细

胞寿命较短(图版 IV:43)。

2.6 雌、雄蕊发育的相关性

在对南方山荷叶雌、雄蕊发育的观察中,发现雌蕊和雄蕊的发育有一定的相关性(表 1)。雄蕊发育早于雌蕊,胚珠中造孢细胞形成时,雄蕊已处于花粉母细胞时期。以后,雌配子体发育速度加快,最后

表 1 山荷叶雌蕊和雄蕊发育的相关
Table 1 The relation of the development between pistil and stamen in *Diphylleia sinensis*

雄蕊发育时期 Stage of stamen development	雌蕊发育时期 Stage of pistil development
造孢细胞 Sporogenous cell	胚珠原基 Ovule primodium
小孢子母细胞 Microspore mother cell	孢原 Archesporium
减数分裂 I、II 及四分体 Meiotic stage I, II and microspore tetrad	大孢子母细胞 Megaspore mother cell
小孢子四分体 The microspore tetrad	大孢子二分体 The megaspore dyad
单核小孢子 Single nucleus microspore	大孢子四分体、功能大孢子 The megaspore tetrad, functional megaspore
单核小孢子分裂期 Single nucleus microspore mitosis	二核胚囊,四核胚囊 Two-, four-nucleate embryo sac
二细胞花粉(Two-celled pollen)	八核胚囊 Eight-nucleate embryo sac
二细胞花粉、散粉 Two-celled pollen spread	成熟胚囊 Mature embryo sac

雌、雄配子体同时成熟。

3 讨论

南方山荷叶小孢子母细胞的减数分裂基本上是同步的,但也存在不同步现象(约 6%)。不仅不同花药或同一花药不同的花粉囊中的减数分裂不同步,就是同一花粉囊内的减数分裂也不同步。这与其近缘植物桃儿七在同一花粉囊内观察到完全同步的现象不相同(另文发表),而与同是其近缘植物八角莲中观察到的现象基本相类似(黄衡宇等,2001)。这种小孢子母细胞减数分裂不同步现象有过许多报道(韩雪梅等,1991;李坤季等,1986;李文钿等,1988;李天庆等,1986;陈懋林等,1988),其不同之处在于,有些植物(如沙冬青等)小孢子母细胞减数分裂的不同步是处于邻近期,而有些植物(如山荷叶、金花茶等)小孢子母细胞减数分裂不同步的跨度则较大。看来小孢子母细胞减数分裂的同步与否,在不同的植物中情况并不一致。一些植物工作者亦曾在各自的研究中观察到小孢子母细胞减数分裂不同步现象,探讨了其起因,提出了不同的观点。李文钿等(1988)在沙棘的研究中认为,由于小孢子母细胞所处的水平位置不同所致。李天庆等(1986)在金花茶研究中的基本观点是,由于小孢子母细胞相互分开时,胼胝质形成过早,可能使它们之间的细胞质通道在早期即堵塞,造成营养分配不均或其它遗传上

的原因。陈懋林等(1988)在萝卜中的研究推测,同一药室内不同步的原因与造孢细胞形成先后或其它原因有关。南方山荷叶不同花药、同一花药的不同药室、同一花药的同一药室内,小孢子母细胞减数分裂不同步呈现梯度,但到减数分裂 II 末期形成四分体时,同一药室甚至不同药室的发育又变得高度一致,几乎同时或先后到达四分体时期,而且四分体时期较长,似乎是在相互等待,使减数分裂不同步的雄蕊尽可能统一于四分体时期。对这种现象,笔者在观察了大量的切片后认为,减数分裂的不同步是由于药室中存在不同的营养梯度、分裂速度等原因所致;而四分体时期的高度一致,南方山荷叶从小孢子母细胞到四分体其外均有胼胝质壁包着,在荧光显微镜下观察,胼胝质壁上有通道,笔者认为,胼胝质壁给小孢子母细胞的减数分裂和四分体的形成在一定时期内和一定条件下提供一个微环境,有利于各种生物化学反应的进行,调整减数分裂的步调,最终使同一药室的减数分裂产物(四分体)高度一致。而不同药室四分体时期的高度一致,笔者则认为完全是由于遗传上的原因所致。

被子植物小孢子母细胞减数分裂过程中所发生的胞质分裂通常分为连续型和同时型两种方式(马海希瓦里,1966)。南方山荷叶的胞质分裂通常是同时型,但有例外:小孢子母细胞在减数分裂 I 结束后,由于在二子核间形成一条异型沟(Johri,1984),产生一个类似二分体的结构,然后经过减数分裂 II

形成小孢子四分体。这显然不符合一般规律, Sampson(1969)认为这种胞质分裂属于同时型中的一种变型。在其近缘属植物八角莲和桃儿七中以及其它一些植物中也有这种现象存在(黄衡宇等, 2001; Bhandari, 1981; Wilkinson, 1944)。对此, 李平等(1992)认为: 由于异型沟的形成, 同时型的胞质分裂可能发生两个步骤, 开始在减数分裂 I 的末期。笔者同意这种观点。这样的现象同时也表明, 关于减数分裂中胞质分裂的分类并不是绝对的, 也许还有其它的一些例外。在胞质分裂过程中, 壁形成的类型与四分体中小孢子的排列方式之间没有必然联系。

小孢子发育的异常和花粉的异型性早有报道(赵建伟等, 1994; 梁汉兴, 1985), 其原因也各持己见。南方山荷叶花粉发育也存在着异型性, 表现为空瘪花粉和巨型花粉。由于花粉的空瘪现象发生较早, 小孢子刚刚从四分体中释放出来就出现空胞现象, 因此, 笔者认为这种现象的存在有三方面的原因: 一是某些绒毡层细胞发育不正常, 过早解体, 使某些小孢子由于营养供应不足而过早地停止发育, 出现空瘪花粉; 二是小孢子母细胞减数分裂时所遇到的高温、干旱等的气候环境, 导致小孢子发生皱缩、胞质收缩、解体, 造成空胞现象; 三是减数分裂过程中染色体发生畸变, 使染色体组失常。至于形成巨型花粉的原因目前尚不十分清楚, 推测可能与小孢子细胞质本身的生理生化功能紊乱或不良的外界环境影响有关。

在本试验中观察到很多(约 75%)双孢原现象, 推测南方山荷叶属于多孢原植物, 但在切片中既没有观察到双大孢子四分体, 也没有观察到双大孢子母细胞现象。估计山荷叶与其他一些植物(胡适宜, 1983)相似, 尽管有多孢原存在, 但只有一个能够继续发育, 其他的在大孢子母细胞形成前就退化了。

被子植物比较胚胎学上一般认为以下胚胎学特征较原始: 表皮宿存或较晚退化; 小孢子四分体形状变异类型多; 多细胞花粉粒; 单花粉; 多大孢子孢原; 厚珠心; 非功能大孢子退化速度慢; 蓼型胚囊; 卵细胞体积比助细胞小; 丝状器不发达。

比较同亚科植物桃儿七(黄衡宇等, 1999)、八角莲(黄衡宇等, 2001; 2004), 南方山荷叶具表皮消失时间较晚; 小孢子四分体形状变异多; 单花粉; 2-细胞或 3-细胞花粉粒; 多大孢子孢原; 非功能大孢子退化速度慢; 蓼型胚囊; 卵细胞体积比助细胞小; 丝

状器不发达等原始的胚胎学性状; 而桃儿七具表皮消失时间早; 小孢子四分体为四面体形, 无变异; 四合花粉; 单细胞花粉粒; 大孢子单孢原; 非功能大孢子退化快; 双孢型胚囊; 卵细胞体积比助细胞大; 丝状器发达等鬼臼亚科中先进的胚胎学性状。因此, 在三属植物中, 桃儿七属是最为进化的。八角莲属系统地位处于山荷叶属和桃儿七属之间。

结合前人关于鬼臼亚科 3 个属的胚胎学工作(黄衡宇等, 1999, 2001, 2004), 可以得知鬼臼亚科内一些胚胎学性状的演化趋势: (1) 南方山荷叶绒毡层为双层, 八角莲具不规则双层, 桃儿七则具单层绒毡层。说明鬼臼亚科内绒毡层细胞层数由双层向单层发展。笔者认为这样的发展趋势能够更有效地保证小孢子在短时间内发育成熟。(2) 南方山荷叶胞质分裂多为同时型, 但少数由于有异型沟的存在, 使其具有二分体的结构; 桃儿七胞质分裂时不存在异型沟, 为典型的的同时型。笔者认为, 小孢子母细胞减数分裂过程中出现异型沟的现象是连续型胞质分裂的一种过渡, 这样鬼臼亚科中存在着胞质分裂由连续型向同时型演化的趋势。(3) 南方山荷叶子房内胚珠数为 4~6, 八角莲为 30~40 个, 桃儿七则为 40~50 个。说明鬼臼亚科植物一个子房内胚珠的数目有由少数向多数演化的趋势。笔者认为这是一种适应的机制, 以产生较强的繁殖优势。(4) 从周缘珠心组织和大孢子母细胞的来源来看, 南方山荷叶为典型的厚珠心胚珠, 八角莲为厚珠心到薄珠心的一种过渡类型, 而桃儿七已具备许多薄珠心的特点了。这说明鬼臼亚科植物的胚珠类型具有向薄珠心演化的趋势。(5) 南方山荷叶非功能大孢子退化较慢, 八角莲较快退化, 而桃儿七的非功能大孢子在大孢子形成后不久就很快退化了。笔者认为这种现象的存在是由珠心组织的存在时间所决定的, 存在时间愈长, 非功能大孢子退化愈慢。这样在鬼臼亚科植物中非功能大孢子退化时间有从慢向快演化的趋势。(6) 南方山荷叶卵细胞比助细胞小得多, 八角莲略小于助细胞, 而桃儿七的卵细胞则明显大于助细胞。笔者认为卵细胞的大小暗示着有性生殖的进化程度。因此, 鬼臼亚科植物中具有性生殖愈来愈发达的趋势, 丝状器的发达程度同样也证明了这一点。从雌、雄发育的相关性来看, 雄蕊的分化与发育早于雌蕊, 发育早期特别明显, 当小孢子母细胞减数分裂接近完成时, 大孢子母细胞才刚刚形成。发育后期, 单核小孢子至二细胞花粉阶段持续时间较长, 而雌

配子体的发育则相当迅速,最终雌、雄配子体同时成熟。从这样的情况来看,山荷叶似乎可以自花传粉,但野外的观察表明,南方山荷叶雌、雄蕊的空间分布、花药散粉时间和柱头可授性等特点有避免自花授粉的趋向(马绍宾等,1997)。因此,南方山荷叶仍是异花传粉植物。

参考文献:

- 马海希瓦里 P. 1966. 被子植物胚胎学引论(陈机译)[M]. 北京:科学出版社:41-44
- 中国科学院植物研究所. 1972. 中国高等植物图鉴(第一册)[M]. 北京:科学出版社:762
- 胡适宜. 1983. 被子植物胚胎学[M],北京:人民教育出版社
- Bhandari NN, Bhargava M, Geier T. 1981. A persisting cellulosic wall of microspore cells during microsporogenesis in *Allium tuberosum* Rottl. and *Cyclamen persicum* Mill[J]. *Ann Bot*, **48**: 425-431
- Chen YH(陈懿亨). 1979. Studies on medical plant resources of Podophyllo in China(国产鬼臼类药用植物资源研究)[J]. *Acta Pharm Sin*(药学报), **17**(1):101-107
- Chen ML(陈懋林), Wang LZ(汪隆植). 1988. A Cyto-Morphological observation on microsporogenesis and development of male gametophyte of *Raphanus sativus*(萝卜小孢子发生和雄配子体发育的细胞形态学观察)[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), **11**(3):14-20
- Davis Gwend L. 1966. Systematic Embryology of the Angiosperms [M]. New York: John Wiley:88-92
- Han XM(韩雪梅), Tu LZ(屠骊珠). 1991. Studies on the development of mega and microsporogenesis and male and female gametogenesis of *Amopiptanthus mongolicus*(沙冬青大、小孢子发生与雌、雄配子体发育)[J]. *Acta Sci Nat Univ Neimonggol*(内蒙古大学学报), **22**(1):119-126
- Huang HY(黄衡宇), Li L(李鹞) Ma SB(马绍宾). 1999. Through studying on podophylloideae discuss the significance of comparative embryology to plant taxonomy & systematic botany(比较胚胎学在植物系统分类学上的意义探讨)[J]. *J Jishou Univ; Nat Sci Edi*(吉首大学学报:自然科学版), **20**(4):31-36
- Huang HY(黄衡宇), Ma SB(马绍宾), Li L(李鹞). 2001. The genesis of microspore and the formation of male gametophyte in *Dysosma versipellis*(Hance)M. Cheng(八角莲小孢子发生和雄配子体形成)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), **21**(4):561-566
- Huang HY(黄衡宇), Ma SB(马绍宾). 2004. The development of megasporogenesis and the formation of female gametophyte in *Dysosma versipellis*(Hance)M. Cheng(八角莲大孢子发生和雌配子体形成)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), **24**(3):309-315
- Johri BM. 1984. Embryology of Angiosperms[M]. Tokyo:Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 153
- Li KJ(李坤季), Yang MX(杨貌仙). 1986. Microsporogenesis and the formation of male gametophyte in *Camellia chrysantha*(金花茶小孢子的发生和雄配子体的形成)[J]. *J Yunnan Univ; Nat Sci Edi*(云南大学学报:自然科学版), **8**(3):302-308
- Li P(李平), Yu XY(余象煜). 1992. Studies on the microsporogenesis and the development of the male gametophyte in *Cornus officinalis* Sieb et Zucc. (Cornaceae)(山茱萸小孢子发生和雄配子体发育的研究)[J]. *J Zhejiang Univ; Sci Edi Edi*(杭州大学学报:理学版), **19**(1):98-105
- Li TQ(李天庆), Cao HJ(曹慧娟). 1986. The development of microspore and male gametophyte in *Camellia*(Hu) Tuyama(金花茶小孢子囊、小孢子和雄配子体的发育)[J]. *J Beijing Fore Univ*(北京林业大学学报), **8**(2):30-34
- Li WD(李文钊), Zhu T(朱彤). 1988. Floral morphology and embryology study of *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi I. morphogenesis of male flower(中国沙棘花部形态学和胚胎学研究——I. 雄花的形态发育)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **24**(3):275-281
- Liang HX(梁汉兴). 1985. The formation of pollen dimorphism in *Paris axialis in vivo*(五指莲二型花粉在体内的形成和发育)[J]. *J Integrative Plant Biology*(植物学报), **27**(5):465-468
- Ma SB(马绍宾), Hu ZH(胡志浩). 1997. A contribution to the geographical distribution and phylogeny of Podophylloideae(Berberidaceae)(小檗科鬼臼亚科的地理分布与系统发育)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **19**(1):48-56
- Ma SB(马绍宾), Huang HY(黄衡宇), Li L(李鹞). 1999. A contribution to the asexual propagation of natural of *Diphyllelia sinensis*(Berberidaceae)(南方山荷叶自然种群无性繁殖初步研究)[J]. *J Jishou Univ; Nat Sci Edi*(吉首大学学报:自然科学版), **20**(4):15-20
- Ma SB(马绍宾), Huang HY(黄衡宇), Zhao NX(赵念玺) et al. 2000. A contribution to the reproductive biology of *Diphyllelia sinensis*(Berberidaceae) in Zhongdian, Yunnan Province(南方山荷叶中甸居群繁殖生物学研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **20**(4):628-637
- Sampson FB. 1969. Cytokinesis in pollen mother cells of angiosperms, with emphasis on *Laurelia novae-zelandiae*(Monimiaceae)[J]. *Cytologia*, **34**:511-634
- Wilkinson AM. 1944. Floral anatomy of some species of *Cornus* Bull[J]. *Torrey Bot Club*, **71**(3):276-301
- Yang XZ(杨显志), Shao H(邵华), Zhang LQ(张玲琪) et al. 2002. Present situation of studies on resources of Podophyllo-toxin(鬼臼毒素资源研究现状)[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), **32**(11):1 042-1 044
- Zhao JW(赵建伟), Huang YW(黄燕文). 1994. Studies on microsporogenesis and formation of pollen in *Praecox* Link. (蜡梅小孢子发生和花粉形成的研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **12**(2):101-103