

宁夏枸杞异型绒毡层发育的超微结构特点

徐青¹, 祁建钊¹, 秦 恳², 谢亚军¹, 张 炎³, 田惠桥⁴

(1 宁夏大学 生命科学学院, 银川 750021; 2 宁夏农林科学院, 银川 750001; 3 宁夏医科大学 电镜室, 银川 750004; 4 厦门大学 生命科学学院, 福建厦门 361005)

摘 要: 采用半薄和超薄切片技术对宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)异型绒毡层的来源、结构及发育特点进行了研究, 结果表明: (1) 枸杞异型绒毡层由药隔绒毡层和药壁绒毡层组成, 两种绒毡层除了来源、形态及分布位置不同外, 其分化、成熟和降解时间, 以及细胞质组成、分泌物成分等均有差异。(2) 小孢子母细胞期间, 药隔绒毡层细胞电子密度大, 具有很强的脂质性质, 光滑内质网和脂质小泡很丰富; 而药壁绒毡层细胞中的核糖体和粗糙内质网较多。四分体后期, 两种绒毡层细胞均含有很丰富的核糖体、粗糙内质网和分泌团。减数分裂前, 两种绒毡层的细胞壁出现松散并呈絮状。之后, 由于不同发育时期绒毡层细胞的不同分泌物在絮状细胞壁中的分布, 致使二者的细胞壁都出现了一系列变化。(3) 从小孢子早期开始, 两种绒毡层细胞的质膜都发生了局部解体。分析推测, 在母细胞期间药隔绒毡层具有较高的糖和脂类合成率, 药壁绒毡层具有较高的蛋白质类合成率; 在四分体后期, 药隔绒毡层具有加强胍酰质酶合成和分泌的功能; 而两种绒毡层絮状松散的细胞壁和局部解体的质膜有利于绒毡层的较大颗粒分泌物大量、顺利地分泌出绒毡层细胞。

关键词: 宁夏枸杞; 异型绒毡层; 超微结构; 发育

中图分类号: Q944.58 文献标识码: A

Ultrastructural Characteristics of Heterotype Tapetum Development in *Lycium barbarum* L.

XU Qing¹, QI Jian-zhao¹, QIN Ken², XIE Ya-jun¹, ZHANG Yan³, TIAN Hui-qiao⁴

(1 College of Life Science Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2 Ningxia Academy of Agriculture and Forestry, Yinchuan 750001, China; 3 Ningxia Medical University, Electron Microscope Room, Yinchuan 750004, China; 4 College of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: To understand the discrepancy of the heterotypic tapetum of *Lycium barbarum* L., we investigated the origin, morphology and ultrastructural characteristics using light and electron microscopy. Besides the origin, form, and the location are different, the time of differentiation, mature and degradation, the cytoplasm composition, and secretion components are not the same in the two tapeta. During the microspore mother cell phase the electronic density is higher and having very strong lipid properties, while smooth ER and lipid vesicles are very rich in C-tapeta, but ribosomes and rough ER are very abundant in P-tapeta. At the late of tetrad there are lots of ribosomes, rough ER and secretory groups in the two tapeta. Before Meiosis the wall of two tapeta appears to loose and with the cottony. Following that during the distribution of different secretions at cottony wall in developmental stages, the walls of the both tapeta have gone through a series of special changes. Moreover, from the early stage of microspore the plasma membranes of the both tapeta disaggregate partially. It is presumed that the P-tapeta possess own a higher rate of protein synthe-

收稿日期: 2009-09-16; 修改稿收到日期: 2009-11-19

基金项目: 宁夏大学自然科学基金(ZR200839); 宁夏科技攻关重大专项(KGZ-09-07-04)资助

作者简介: 徐青(1964—), 女(汉族), 硕士, 副教授, 主要从事植物发育生物学教学与研究工作。E-mail: xqing08@163.com

sis, and C-tapeta having a higher rate of sugar and lipid synthesis during the microspore mother cell stage. At the late stage of tetrad C-tapeta have strengthening the functions of synthesis and secretion of callose enzyme. The cottony wall and the partial disintegrated plasma membrane of two tapeta facilitate to secrete greater nutrient granules out of the tapetacells with large quantity and smoothly.

Key words: *Lycium barbarum* L.; heterotype tapetum; ultrastructure; development

绒毡层是小孢子直接与孢子体接触的一层特殊的体细胞分泌组织。在小孢子发育过程中, 这种特殊的分泌组织对小孢子营养供应、各种酶的合成和分泌、花粉外壁以及乌氏体的形成等起着非常关键的作用^[1-3]。通常, 大多数被子植物花药药室中的绒毡层由一种类型绒毡层组成, 并且其起源和形态都相同, 称为同型绒毡层。但是有少数科植物, 如玄参科(Scrophulariaceae)、爵床科(Acanthaceae)、唇形科(Lamiaceae)、兰科(Orchidaceae)、茄科(Solanaceae)植物^[4]的绒毡层由起源和形态不同的两种类型的绒毡层组成, 这种绒毡层为异型绒毡层。异型绒毡层由药壁绒毡层和药隔绒毡层组成。药壁绒毡层来源于初生周缘细胞, 形状较小; 药隔绒毡层来源于药隔薄壁组织, 形状较大。所以, 异型绒毡层具有双重起源和形态二型性特点^[5]。近年来研究发现, 异型绒毡层在超微结构、发育状况和组织化学方面也存在差异^[6-10]。但是到目前为止, 对于异型绒毡层的研究仍旧很少, 对异型绒毡层之间的差异及存在意义等了解尚少。宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)是宁夏道地中药材, 具有很高的医药和保健养生价值。光镜观察发现其绒毡层为异型绒毡层, 并且药壁与药隔绒毡层发育等明显不同^[11]。本研究进一步对枸杞两种不同绒毡层超微结构发育进行系统的观察、比较, 以探讨枸杞异型绒毡层细胞发育的超微结构特点, 及其与营养物质合成和分泌机制的关系, 为枸杞研究和被子植物绒毡层研究提供理论基础。

1 材料和方法

2008年6月, 于宁夏银川南梁农场枸杞种植园剪取具有不同大小花蕾的‘宁杞1号’枝条(宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)栽培品种)。在实验室内剥离花药, 并用压片法确定花药发育时期。而后将不同发育时期花药用2.5%戊二醛前固定液(二甲胍酸钠配制, 0.05 mol/L, pH 7.0)于室温下前固定3 h, 然后在1%锇酸后固定液中(二甲胍酸钠配制)于4℃后固定12 h, 再进行系列梯度丙酮脱水, 环氧树脂Epon812渗透与包埋, 60℃恒温箱中聚合48~

72 h。莱卡UC-6型超薄切片机切片, 半薄切片厚度为1~1.5 μm, 超薄切片厚度70~80 nm。半薄切片在Leica DM LAM光学显微镜下观察与拍照, 超薄切片经醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色后在JEM-2100HC透射电子显微镜上观察与拍照。

2 观察结果

2.1 枸杞异型绒毡层的发生及形态差异

显微观察结果表明, 枸杞绒毡层由药壁绒毡层(P-绒毡层)和药隔绒毡层(C-绒毡层)两种不同类型的绒毡层组成, 并且两种绒毡层的来源、分化形成时间及形态也大不相同。具体观察结果如下:

P-绒毡层来源于初生周缘层, 是由初生周缘细胞分裂后的内侧次生周缘细胞经过1次平周分裂后, 内层细胞(靠药室的细胞)在次生造孢细胞分化过程中分化形成的(图版I, 1)。C-绒毡层来源于药隔薄壁组织, 形成时间比P-绒毡层稍晚。在P-绒毡层细胞分化形成时, 紧邻次生造孢细胞的药隔表层薄壁细胞开始进入绒毡层分化状态。之后, 位于次生造孢细胞内侧、中间的表层药隔薄壁细胞体积迅速增大, 从而使药隔逐渐呈丘状隆起伸向药室, 导致了次生造孢细胞呈月牙状排列(图版I, 1)。在次生造孢细胞发育成小孢子母细胞时, 药隔表面中间的C-绒毡层分化形成, 紧接着该C-绒毡层两侧的药隔薄壁细胞陆续分化形成绒毡层, 并逐渐延伸与P-绒毡层连接, 形成了马蹄形的绒毡层环, 围绕在药室表面, 将小孢子母细胞包围(图版I, 2)。这样, P-绒毡层位于花粉囊的外侧、药壁细胞的最内层, 细胞呈近方形或长方形。C-绒毡层位于呈丘状隆起、伸向药室的药隔薄壁组织的表面, 细胞呈长楔形或扇形或纵向长形; 并且, 二者的细胞质均很浓, 与花药其他的体细胞组织有明显的区别(图版I, 2)。而两种绒毡层细胞本身的细胞质浓度也有差别, C-绒毡层的胞质浓度要稍大于P-绒毡层的胞质浓度(图版I, 3、4)。因此, 枸杞P-绒毡层和C-绒毡层不仅来源和形态不同, 而且二者的分布位置、分化形成时间以及细胞质浓度也存在不同。

2.2 枸杞异型绒毡层PCD差异及绒毡层类型

细胞程序性死亡(Programmed cell death,

PCD)是植物发育过程中由基因控制的、主动的细胞死亡过程,绒毡层的降解过程即属于PCD。观察发现,枸杞P-绒毡层与C-绒毡层开始降解和完全解体的时间(PCD时间)明显不同。通常C-绒毡层开始PCD的时间早于P-绒毡层(图版I,4)。从小孢子母细胞减数分裂至小孢子液泡化期间,均可观察到C-绒毡层开始降解现象,且C-绒毡层细胞降解时,细胞强烈液泡化并伴随着细胞扭曲变形、原生质体收缩等现象(图版I,5)。在小孢子液泡化期间至二核花粉早期,C-绒毡层大多数于原位收缩、消失(图版I,6),而P-绒毡层开始降解的时间多发生在小孢子液泡化期间,并且P-绒毡层降解发生时,往往是相邻细胞径向壁内侧的原生质体首先开始收缩(图版I,7)。在二核花粉发育中期,P-绒毡层于原位收缩、消失(图版I,8)。另外,在PCD过程中,二者细胞仍旧进行着营养物质的分泌活动,营养物质与细胞降解产物一起逐渐分泌、溢入药室(图版II,1),直至完全溢出,最后松散的细胞壁解体、消失。因此,根据两种绒毡层的分泌行为,枸杞的P-绒毡层与C-绒毡层均属于分泌型绒毡层。

2.3 枸杞异型绒毡层发育的超微结构差异

透射电镜观察发现,从绒毡层分化形成至完全解体,枸杞两种绒毡层细胞的原生质体有着明显的不同,并且细胞壁(尤其是内切向壁)在不同发育时期,结构出现了不同的变化。

2.3.1 小孢子母细胞期间

母细胞早期,P-绒毡层细胞胞质致密,核糖体丰富,细胞壁较疏松,原生质体表面有细胞分泌形成的颗粒分布(图版II,2)。但是C-绒毡层细胞的胞质密度很大,电镜下具有很强的脂质性质,大小不等的脂质囊泡非常丰富,光滑内质网较长、呈网状分布于胞质中,并且可见脂质囊泡和液泡与光滑内质网的末端相通(图版II,3),所以这些脂质囊泡和液泡可能来源于光滑内质网。细胞壁结构解体,取而代之为松散、蓬松的絮状细胞壁,与质膜一起花瓣状向药室隆起。其原生质体表面的分泌颗粒也较多(图版II,3)。母细胞减数分裂期间,P-绒毡层细胞横向增大,细胞核分裂成2核,胞质中核糖体、粗糙内质网增多,细胞壁也蓬松呈絮状,大量细胞分泌颗粒密集在絮状细胞壁中而使得细胞壁呈蜂窝状(图版II,4)。C-绒毡层细胞剧烈增大,呈楔形凸向药室,细胞核分裂形成了2~4核细胞,胞质中脂质泡和液泡增多,光滑内质网网状密集分布,分泌颗粒在絮状细胞壁中较多而使得细胞壁似蜂窝状(图版II,5)。放大后可见,分泌颗粒通

过蓬松的絮状细胞壁溢入药室,细胞壁内侧未见质膜(图版II,6)。

2.3.2 四分体期间

四分体早期,P-绒毡层细胞体积达到最大,近方形或径向长方形,胞质仍然很致密,核糖体、线粒体丰富,粗糙内质网近均匀地分散在胞质中,絮状细胞壁中仍然分布着较多分泌颗粒。因分泌颗粒纵向较整齐地排列而使得此时的细胞壁呈齿条状,质膜清晰可见(图版II,7)。C-绒毡层细胞胞质依旧浓密具脂质性质,光滑内质网密集呈网状交错分布,大小不等的脂质囊泡和液泡充满了整个细胞,细胞壁很厚,分泌颗粒排列较整齐(图版II,8)。高倍放大后,原生质体表面未见质膜,众多较大的、电子密度中等的颗粒较整齐地排列在蓬松的细胞壁中,分布形式与P-绒毡层不同(图版III,1)。在四分体胼胝质壁降解期间,药室中出现了很多电子密度大的致密小颗粒群,这些颗粒群在两种绒毡层细胞内及切向壁周围分布尤其多。电镜下可见这些致密小颗粒群从绒毡层的内切向壁分泌出来(图版III,2),流向四分体胼胝质壁的表面(图版III,3、4)。此时将P-绒毡层放大后观察,其细胞壁中的囊泡与囊泡碎片分布很多,致使细胞壁呈蜂窝状,致密小颗粒群通过细胞壁分泌到药室,质膜清晰可见(图版III,5),胞质密度很大,较多排列成长宽带状的粗糙内质网堆分布于细胞中,并且宽带状粗糙内质网堆之间致密小颗粒群以及团成球状、蜈蚣状等不规则形状的分泌团非常多(图版III,6)。将分泌团放大后仔细观察发现,这些分泌团是由大量很微细的分泌管或像毛线团样疏松地团成球状,或由一个很短的分泌管发出很多分支呈蜈蚣状,或由分泌管疏松地团成不规则状,并且这些分泌团均没有外膜包裹,而致密小颗粒群就分布于这些分泌团的表面、周围以及带状粗糙内质网的表面,并且致密小颗粒群是由核糖体颗粒和粗糙内质网管的分泌物聚集而成(图版III,7)。因此,推测致密小颗粒群为含有蛋白的分泌物。致密小颗粒群分离后,以小囊泡形式从绒毡层细胞中分泌出来,最后大量附着在四分体胼胝质壁表面。而C-绒毡层细胞同P-绒毡层细胞一样,也含有非常多致密小颗粒群和不同形状的分泌团。致密小颗粒群分布于分泌团周围和条带状粗糙内质网的表面,质膜也清晰可见,细胞壁被分泌囊泡和囊泡碎片占据也呈蜂窝状(图版III,8)。

2.3.3 小孢子期间

小孢子早期,P-绒毡层细胞胞质密度依旧很大,其中含有丰富的核糖体和很多长形粗糙内质网堆,但较之前相比该粗糙内质网堆要

小, 在粗糙内质网堆之间具有丰富的线粒体及脂质囊泡(图版 IV, 1), 而在近内切向壁附近粗糙内质网平周分布(图版 IV, 2), 前乌氏体为囊状小泡, 电子密度低, 位于鸟巢状松散的细胞壁内侧, 未见质膜(图版 IV, 2)。此时, C-绒毡层细胞胞质密度减小, 内质网较少, 液泡和囊泡较多, 质膜不完整, 有些部位的原生质体表面直接为鸟巢状细胞壁, 前乌氏体也分布于鸟巢状细胞壁的内侧(图版 IV, 3, 4)。

小孢子液泡化过程中, P-绒毡层细胞开始降解, 胞质变稀, 核糖体减少, 粗糙内质网槽库较宽, 胞质中由粗糙内质网形成的前乌氏体较多, 质膜不完整(图版 IV, 5), 且波浪状向原生质体内部凹陷, 细胞壁已变成稀疏的沙状, 前乌氏体穿越沙状细胞壁时表面覆盖了孢粉素而转变为乌氏体(图版 IV, 6)。之后, 乌氏体数量及其表面覆盖的孢粉素增多。而此时 C-绒毡层细胞处于降解之中, 胞质中前乌氏体较多, 内质网等细胞器结构变得模糊不清, 蓬松的细胞壁依旧向药室中分泌乌氏体(图版 IV, 7)。

小孢子晚期, P-绒毡层细胞处于降解之中, 胞质中液泡增多, 液泡中出现了电子密度很大的似脂质球, 粗糙内质网较粗大且数量不多, 脂质囊泡充斥着整个细胞, 此时乌氏体分泌达到了高峰, 极性地分布于靠腔面絮状纤维化的细胞壁表面。放大后观察发现, 质膜已解体, 乌氏体近似椭圆形, 电子密度很大且质地均匀、似脂质, 表面较粗糙(图版 IV, 8)。与此同时, C-绒毡层细胞深度解体, 大部分胞质已溢入药室, 质膜完全解体, 细胞仅靠絮状细胞壁维持形状, 但细胞仍在分泌着大量的乌氏体。

2.3.4 二胞花粉 二胞花粉早期, P-绒毡层细胞进一步降解, 细胞降解特征同之前的 C-绒毡层。此时 C-绒毡层原生质体解体、消失, 仅剩疏松的细胞壁和少量乌氏体存留。紧接着, C-绒毡层细胞完全消失。二胞花粉中期 P-绒毡层细胞也同 C-绒毡层细胞一样, 原生质体、蓬松的细胞壁和乌氏体逐渐于原位解体、消失。

3 讨论

3.1 枸杞异型绒毡层发育的超微结构特点

前人对同型绒毡层研究后发现, 在绒毡层发育过程中其细胞超微结构发生了多次变化, 并且在细胞变化的同时, 细胞合成了花粉所需的不同营养物质, 如四分体阶段绒毡层细胞收缩的同时, 胞质中出现了较多粗糙内质网堆, 并由其产生出大量的脂质小球、前乌氏体。小孢子早期孢粉素合成期间, 细

胞质中的核糖体大量增加等等^[12, 13]。本研究结果表明, 从小孢子发生至雄配子体成熟过程中, 枸杞异型绒毡层与其它植物的同型绒毡层一样经历了一系列分化、成熟、退化等变化阶段, 最后以完全解体而告终。并且枸杞异型绒毡层的超微结构变化与同型绒毡层有很多相似之处, 如胞质浓厚, 细胞器丰富, 特别是核糖体、内质网、线粒体等, 并且随着细胞的发育, 其细胞器超微结构也出现了多次变化等。但除此之外, 在枸杞异型绒毡层及之间还有许多超微结构变化特点与细微的差别。具体表现在, 在两种绒毡层完全分化至减数分裂结束以前, 药隔绒毡层细胞电子密度较药壁绒毡层细胞更大, 并且具有很强的脂质性质, 此时胞质中含有丰富的光滑内质网和脂质囊泡; 而药壁绒毡层细胞胞质中的核糖体与粗糙内质网很丰富。在四分体胼胝质壁降解期间, 两种绒毡层的细胞质基本一致, 胞质中核糖体、粗糙内质网、分泌团与致密颗粒物均非常丰富。此外, 在母细胞减数分裂前, 两种绒毡层的细胞壁均发生高度膨胀, 松散呈絮状。之后随着绒毡层细胞的发育, 其胞质分泌物在两种绒毡层絮状细胞壁中先后以颗粒蜂窝状、囊泡蜂窝状、齿条状和颗粒蜂窝状、囊状乌氏体以及均质乌氏体形式出现, 使得绒毡层细胞壁出现了不同的形态、结构。并且从母细胞减数分裂期间开始, 两种绒毡层细胞的质膜常常局部降解。异型绒毡层细胞的这种超微结构变化与差别目前尚未见类似报道。

关于绒毡层的细胞壁, 前人已在很多同型绒毡层的研究观察到了其细胞壁消失现象^[7, 8, 10, 14-18], 但是, 在枸杞异型绒毡层发育过程中, 其细胞壁并未观察到像同型绒毡层那样发生解体, 却与番茄细胞壁松弛有些类似^[8]。笔者认为, 在绒毡层细胞发育处于顶峰阶段, 其细胞壁以非常蓬松的状态分布于细胞表面, 既能最大限度地维持细胞形状, 又能让大颗粒细胞分泌物, 包括囊泡等顺利穿越细胞进入药室。而质膜的局部解体就像网一样分布于絮状细胞壁内侧, 则有利于胞质分泌物大量、迅速地泌出。这种解释在鄂报春(*Primula obconica*)绒毡层细胞质膜中得到了验证^[19]。枸杞绒毡层细胞壁中分泌物的形态结构变化, 从结构角度证明了绒毡层不同发育时期合成和分泌的营养物质不同。因此, 枸杞异型绒毡层在超微结构水平胞质、细胞壁与质膜发生的一系列变化, 反映了绒毡层这种分泌细胞的特殊性, 同时对于不同时期小孢子营养物质的大量、不同需求提供了保障。

3.2 枸杞不同绒毡层营养作用的差别

众所周知, 绒毡层是植物体中一种短命的营养组织, 这种营养组织不仅在发育高峰时与小孢子发育、营养供应有关, 而且其降解产物依旧与花粉外壁纹饰合成, 以及花粉与柱头的相互识别和传粉作用等有关^[14, 15]。目前研究表明, 绒毡层的降解过程属于PCD过程。绒毡层细胞在特定发育时期的PCD与花粉的发育密切相关。通常绒毡层降解起始于四分体或之后的时期, 至二胞花粉产生前后基本完成^[16]。

本研究表明, 枸杞异型绒毡层, 与玄参科黑蒴属的 *Alectra thomsoni* 和番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 等异型绒毡层一样, 其药壁和药隔绒毡层具有不同的来源及形态^[5, 8]。除此之外, 枸杞两种绒毡层的分化和降解时间以及原生质体组成也有差别。药壁绒毡层分化完成的时间稍早于药隔绒毡层, 二者分别在次生造孢细胞和小孢子母细胞早期分化形成, 但药隔绒毡层开始降解和完全退化解体的时间却早于药壁绒毡层。药隔绒毡层在减数分裂、四分体及小孢子早期不同发育阶段均可见其开始降解现象, 而药壁绒毡层多数在小孢子液泡化期间开始降解。在小孢子晚期和二胞花粉中期, 二者先后解体、消失。所以, 药隔绒毡层存在的时间较药壁绒毡层更短。但是由于药隔绒毡层位于药隔, 并且具有较大的体积、表面积并且凸向药室, 这样其含有的营养物质更多, 营养物质向药室输送的效率更高。因此, 这两种绒毡层不仅在营养物质向药室分泌和输送的效率上有差异^[6, 20], 而且在营养物质输送的时间上也有差别, 药隔绒毡层承担的小孢子营养功能主要在小孢子发育的早期, 而药壁绒毡层在其解体消失之前均具有营养功能。

在减数分裂结束以前, 枸杞药壁绒毡层细胞含有较丰富的核糖体和粗糙内质网, 药隔绒毡层细胞含有较丰富的光滑内质网, 这就意味着在小孢子母细胞发育期间, 药壁绒毡层细胞具有较高的蛋白类物质的合成率, 而药隔绒毡层细胞在多糖和脂类物质上的合成较高, 并且小孢子母细胞期间母细胞对多糖和脂类物质有较高的需求。枸杞两种绒毡层这种功能上的差异可以在甜椒 (*Capsicum annuum* L. var. *grossum*) 和番茄异型绒毡层的组织化学和含量测定中得到证实^[6, 8]。在四分体胼胝质壁降解期间, 两种绒毡层细胞内均出现了大量的核糖体、粗糙内质网、分泌团与电子致密颗粒物, 而在绒毡层细胞

壁及周围表面、药室及四分体胼胝质壁表面也大量分布着与绒毡层细胞内同样的电子致密颗粒物。笔者根据致密颗粒物、分泌团与核糖体、粗糙内质网的存在、分布位置与出现的时间推测, 这些电子致密颗粒物很可能就是大量聚集的胼胝质酶。因此, 在四分体后期, 两种绒毡层共同承担了合成、分泌胼胝质酶的功能, 而药隔绒毡层的存在增强了胼胝质酶合成和分泌的效率。

已有研究表明, 绒毡层细胞不同功能的实现和转换与其细胞壁和内质网代谢调节作用有很大关系^[12, 21, 22]。通常在分泌细胞中, 粗糙和光滑内质网丰富而形态多样, 它们在蛋白质、多糖和脂质的合成、转化和运输上具有非常重要的作用^[23, 24]。这也就很容易理解枸杞绒毡层细胞作为一种分泌细胞其细胞质中的高尔基体为什么不发达的原因了。笔者认为, 是因为枸杞绒毡层细胞内发达的内质网及其形成的囊泡替代了高尔基体的加工和分泌作用, 将粗糙内质网和光滑内质网合成的蛋白质、多糖和脂类物质由囊泡运输并分泌到了细胞外。这种推测在北美短叶松 (*Pinus banksiana*) 和百合 (*Lilium hybrida* var. *enchantment*) 绒毡层细胞中也得到了印证, 百合绒毡层细胞中也存在大量来源于内质网的扁平囊泡, 而其细胞质中的高尔基体并不丰富^[12, 24]。枸杞异型绒毡层超微结构特点及其不同绒毡层细胞的变化与其营养物质合成、转运及分泌功能息息相关。

3.3 关于枸杞乌氏体和孢粉素的起源

关于乌氏体的起源, 多数研究者认为起源于内质网^[7, 25-27], 也有人认为起源于线粒体^[28, 29]。本研究观察发现, 枸杞前乌氏体在绒毡层细胞质中以电子密度中等的脂质球形小囊泡形式存在, 并且还观察到前乌氏体是由粗糙内质网末端膨大断裂后形成。所以枸杞前乌氏体起源于粗糙内质网。从小孢子早期开始, 枸杞前乌氏体从网状质膜溢出到蓬松的细胞壁的表面, 并且迅速被孢粉素物质所覆盖形成乌氏体, 极性分布于绒毡层细胞的靠腔面。此外, 枸杞孢粉素也起源于粗糙内质网。枸杞孢粉素也是由粗糙内质网分泌的具有脂质性质的微颗粒。类似脂质小体由粗糙内质网起源也曾多次报道过^[30, 31]。孢粉素对脂质表面和小孢子外壁具有一定的亲和力, 所以, 在绒毡层的靠腔面, 孢粉素沉积在前乌氏体上形成了乌氏体^[32]。

参考文献:

- [1] CHAPMAN G P. The tapetum[J] . *Int. Rev. Cytol.*, 1987, 107: 111—125.
- [2] PACINI E. Tapetum and microspore function[C] .// Blackmore S. Knox R B. Microspores: Evolution and Ontogeny. London: Academic press, 1990: 213—237.
- [3] LIU N(刘 宁), WANG F X(王伏雄), CHEN Z K(陈祖铿). Fine structure of tapetal cells and ubisch bodies in the anther of *Ophiopogon japonicus*[J] . *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1992, 34(1): 15—19(in Chinese).
- [4] JOHRI B M. Embryology of Angiosperms[M] . New York Tokyo: Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1984.
- [5] VIJAYA RAGHAVAN M R, RATNAPA RKHI S. Dual origin and dimorphism of the anther tapetum in *Alectra thomsoni* Hook. [J] . *Ann. Bot.*, 1973, 37: 355—359.
- [6] FANG J(方 瑾), ZHANG SH Z(张述祖). Tapetum dimorphism and its histochemical study in sweet pepper (*Capsicum annuum* L. var. *grossum*) [J] . *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1988, 30(9): 352—356(in Chinese).
- [7] CHEN Z K(陈祖铿), WANG F X(王伏雄), ZHOU F(周 馥). The ultrastructural aspect of tapetum and ubisch bodies in *Anemarrhena asphodeloides*[J] . *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1988, 30(1): 1—5(in Chinese).
- [8] POLOWICK P L, SAWHENY V K. Differentiation of the tapetum during microsporogenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), with special reference to the tapetal cell wall[J] . *Ann. Bot.*, 1993, 72: 595—605.
- [9] FANG J(方 瑾), WANG J H(王建红), LU G Q(鲁国庆), et al. An ultrastructural study on dimorphism of tapetum in *Rehmannia*[J] . *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 1994, 12(4): 289—297(in Chinese).
- [10] YE B X(叶宝兴), YAN X X(阎先喜). Studies on ultrastructure of tapetum development in *Dolichos lablab* L. [J] . *Acta Bot. Boreali-Ocident. Sin.* (西北植物学报), 2000, 20(1): 135—140(in Chinese).
- [11] TIAN H Q(田惠桥). The micro-and-megasporogenesis and development of male and female gametophyte of *Lycium barbarum* L. [J] . *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 1987, 5(1): 17—21(in Chinese).
- [12] DICKINSON H G, BELL P R. The changes in the tapetum of *Pinus banksiana* accompanying formation and maturation of the pollen[J] . *Ann. Bot.*, 1976, 40: 101—109.
- [13] ROBERTSON B L. Tapetal cell changes and sporoderm development in *Rhizogonum trichotomum* (Burch.) [J] . *Ann. Bot.*, 1984, 53: 803—810.
- [14] BHANDARI N N, BHARGAVA M, GEIER T. A persisting cellulosic wall of microspore mother cells during microsporogenesis in *Allium tuberosum* Rottl. and *Cyclamen persicum* Mill. [J] . *Ann. Bot.*, 1981, 48: 425—431.
- [15] PACINI E, FRANCHI G G, HESSE M. The tapetum; Its form, function, and possible phylogeny in embryophyta[J] . *Plant Syst. Evo.*, 1985, 149: 155—185.
- [16] PAPINI A, MOSTI S, BRIGHIGNA L. Programmed-cell-death events during tapetum development of angiosperms[J] . *Protoplasma*, 1999, 207: 213—221.
- [17] LIU L(刘 林), ZHANG H Y(张恒悦), FAN SH G(范树国), et al. Further observation on tapetum and pollen development in watermelon [J] . *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 2000, 18(2): 85—89(in Chinese).
- [18] BEATRIZ G G, FEDERICO M, et al. Pollen, tapetum and orbicule development in *Modiolastrum malvifolium* (Malvaceae) [J] . *Ann. Bot.*, 2007, 99(4): 755—763.
- [19] STEVENS V A, MURRAY B G. Studies on heteromorphic self-incompatibility systems; The cytochemistry and ultrastructure of the tapetum of *Primula obconica*[J] . *Cell Sci.*, 1981, 50: 419—431.
- [20] MAHESHWARI P. An introduction to the Embryology of Angiosperms[M] . New York: McGraw-Hill, 1950.
- [21] STEER M W. Differentiation of the tapetum in *Avena*. I. The cell surface[J] . *Cell Sci.*, 1977a, 25: 125—138.
- [22] STEER M W. Differentiation of the tapetum in *Avena*. II. The endoplasmic reticulum and Golgi apparatus[J] . *Cell Sci.*, 1977b, 28: 71—86.
- [23] MORRE J. Membrane biogenesis[J] . *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1975, 26: 441—481.
- [24] REZNICKOVA S A, DICKINSON H G. Ultrastructural aspects of storage lipid mobilization in the tapetum of *Lilium hybrida* var. *enchantment*[J] . *Planta*, 1982, 155: 400—408.
- [25] ROWLEY J R, WALLEES B. Origin and structure of Ubisch bodies in *Pinus sylvestris*[J] . *Acta Soc. Bot. Pol.*, 1987, 56(2): 215—227.
- [26] FU J H(傅建华), CHEN L B(陈良碧), LIU ZH L(刘志玲), et al. Ultrastructure observation of tapetal cell and ubisch bodies in the anther of rice (*Oryza sativa* L.) [J] . *Life Science Research* (生命科学研究), 1999, 3(2): 155—160(in Chinese).
- [27] REZNICKOVA S A, WILLEMSE M T M. Formation of pollen in the anther of *Lilium*. II. The function of the surrounding tissues in the

- formation of pollen and pollen wall[J]. *Ada Bot. Neerl* 1980, **29**(3): 141—156.
- [28] HESLOP-HARRISON J. Origin of exine[J]. *Nature* 1962, **195**: 1 069—1 071.
- [29] HESLOP-HARRISON J, DICKINSON H G. Time relationships of sporopollenin synthesis associated with tapetum and microspores in *Lilium*[J]. *Planta*, 1969, **84**: 199—214.
- [30] NAPIER J A, STOBART A K, SHEWRY P R. The structure and biogenesis of plant oil bodies: the role of the ER membrane and the oleosin class of proteins[J]. *Plant Mol. Biol.*, 1996, **31**(5): 945—956.
- [31] HSIEH K, HUANG A H. Lipid-rich tapetosomes in *Brassica tapetum* are composed of oleosin-coated oil droplets and vesicles, both assembled in and then detached from the endoplasmic reticulum[J]. *Plant J.*, 2005, **43**(6): 889—899.
- [32] MISSET M T, GOURRET J P. Accumulation of smooth cisternae in the tapetal cells of *Ulex europaeus* L.[J]. *Cell Sci.*, 1984, **72**: 65—74.

图版说明:

SSC. 次生造孢细胞; PT. 药壁绒毡层; CT. 药隔绒毡层; MMC. 小孢子母细胞; Te. 四分体; rER. 粗糙内质网; sER. 光滑内质网; Mi. 小孢子; W. 细胞壁; v. 液泡; Ve. 囊泡; m. 线粒体; Ub. 乌氏体; L. 脂滴; Lo. 药室; Po. 花粉粒; M L. 中层; ca. 胼胝质壁

图版 I 1. P-绒毡层(PT)分化形成时,药隔表面的薄壁细胞才开始C-绒毡层(箭头所示)的分化,×200; 2. 示P-绒毡层(PT)和C-绒毡层(CT),×200; 3. C-绒毡层细胞的胞质浓度较P-绒毡层细胞的胞质浓度大,×200; 4. C-绒毡层细胞降解时间较P-绒毡层细胞早,×200; 5. 降解过程中的C-绒毡层细胞,×500; 6. C-绒毡层细胞解体消失时间较P-绒毡层细胞早,×200; 7. P-绒毡层细胞降解时径向壁内侧的细胞质首先发生收缩,×2 500; 8. P-绒毡层细胞的细胞质几乎完全降解,仅剩细胞壁、乌氏体,×1 000.

图版 II 1. 绒毡层细胞降解过程中细胞内容物溢入药室(Lo),×8 000; 2. 母细胞早期P-绒毡层细胞的细胞壁(W)疏松,胞质表面有少量分泌颗粒(箭头所示),×25 000; 3. 母细胞早期C-绒毡层细胞胞质密度很大,具脂质性质,光滑内质网(sER)和脂质囊泡丰富,细胞壁松散呈絮状(箭头所示),×15 000; 4. 减数分裂期间P-绒毡层细胞核糖体、粗糙内质网(rER)较多,细胞壁呈絮状,分泌颗粒密集于絮状细胞壁中使得细胞壁呈蜂窝状(箭头所示),×10 000; 5. 减数分裂前C-绒毡层细胞光滑内质网和脂质泡增多,细胞壁呈蜂窝状,×8 000; 6. 图5放大,示蜂窝状细胞壁及分泌颗粒,×40 000; 7. 四分体早期P-绒毡层细胞胞质及其齿条状细胞壁(白色箭头所示),×6 000; 8. 四分体早期C-绒毡层细胞的细胞壁非常厚且排列整齐(箭头所示),光滑内质网和脂质囊泡仍然很多,×8 000.

图版 III 1. 图版II 8放大,示蜂窝状细胞壁和分泌颗粒(箭头所示),细胞壁内侧未见质膜,×15 000; 2. 示致密颗粒由绒毡层细胞内分泌到药室(箭头所示),×5 000; 3. 示致密颗粒附着于四分体胼胝质壁的表面(箭头所示),×3 000; 4. 图3放大,示药室(箭头所示)和四分体胼胝质壁表面的致密颗粒,×5 000; 5. 示质膜与由小分泌囊泡和囊泡膜聚集而成的蜂窝状细胞壁(箭头所示),×15 000; 6. 四分体胼胝质壁降解期间,P-绒毡层细胞含有非常多致密颗粒与不同形状的分泌团(白色箭头所示),×8 000; 7. 图6放大,示细胞质中的分泌团(白色箭头所示)与致密颗粒的分布,×10 000; 8. 示四分体胼胝质壁降解期间C-绒毡层细胞中的致密颗粒及呈蜂窝状的细胞壁(箭头所示),×15 000.

图版 IV 1. 示小孢子早期P-绒毡层细胞中的粗糙内质网堆、线粒体与脂质囊泡,×40 000; 2. P-绒毡层细胞中平周分布的粗糙内质网、前乌氏体和松散的细胞壁(箭头所示),×20 000; 3. 示P-绒毡层细胞鸟巢状细胞壁及其内侧的前乌氏体,未见质膜,×30 000; 4. 示小孢子早期C-绒毡层细胞的鸟巢状细胞壁(箭头所示)及其内侧的前乌氏体,以及部分质膜,×20 000; 5. 小孢子液泡化期间P-绒毡层细胞开始降解,胞质稀薄,质膜不完整,乌氏体(Ub)分布于沙状细胞壁表面,×25 000; 6. 图5放大,示质膜波浪状内陷,乌氏体分布于沙状细胞壁(箭头所示)外侧,×50 000; 7. 小孢子液泡化期间,处于降解之中的C-绒毡层细胞器结构已模糊,絮状细胞壁(箭头所示)的表面仍旧分布着乌氏体,×10 000; 8. 小孢子晚期降解中的P-绒毡层细胞大部分胞质已流入药室,质膜完全消失,细胞仅靠絮状细胞壁(箭头所示)维持形状,其表面依然分布着大量的乌氏体,×25 000.

Explanation of plates:

SSC. Secondary sporogenous cell; PT. Parietal tapetum; CT. Connective tapetum; MMC. Microspore mother cell; Te. Tetrad; rER. Rough endoplasmic reticulum; sER. Smooth endoplasmic reticulum; Mi. Microspore; W. Cell wall; v. Vacuole; Ve. Vesicle; m. Mitochondria; Ub. Ubisch body; L. Lipid droplet; Lo. Loculus; Po. Pollen; ML. Middle layer; ca. Callose

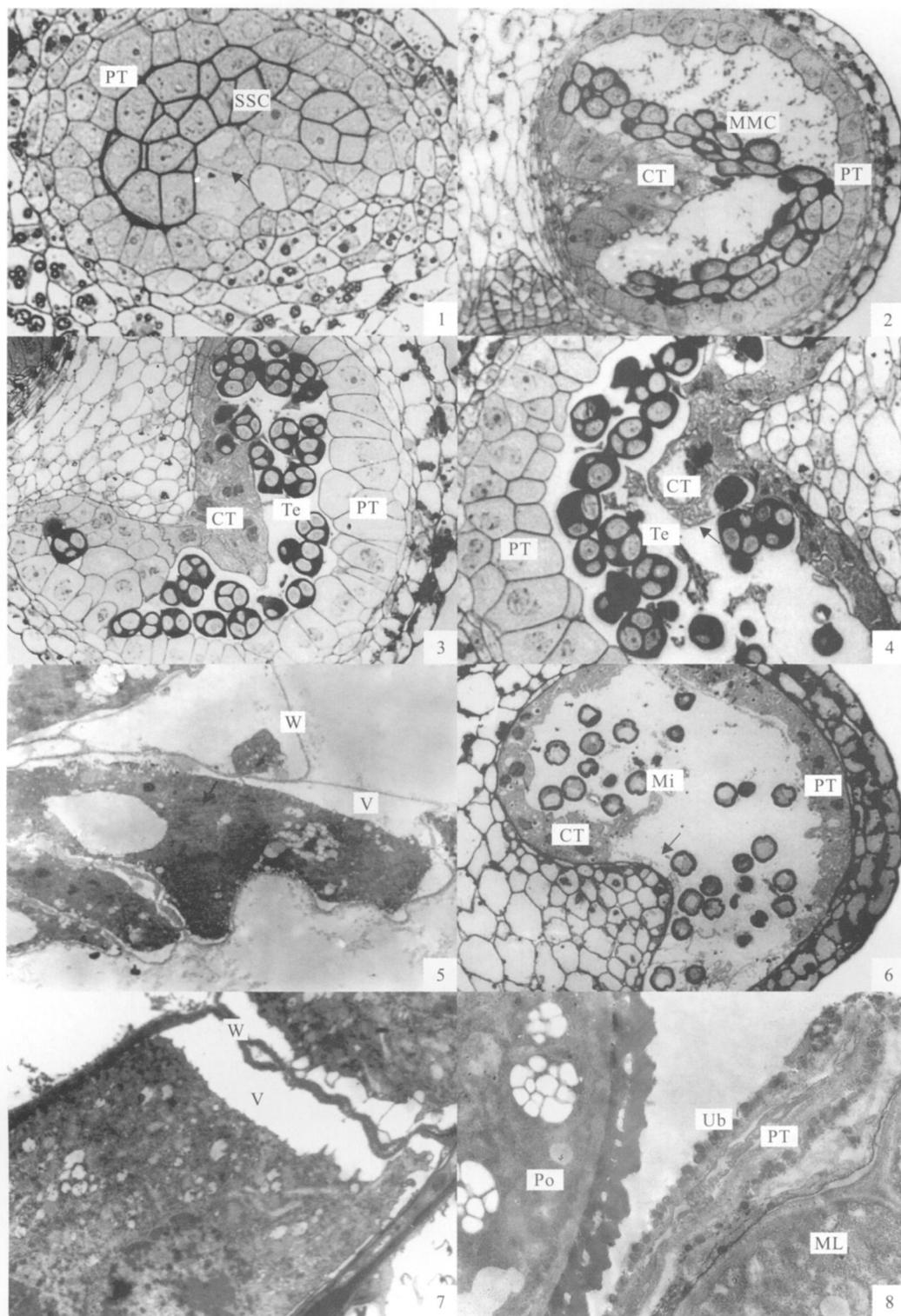
Plate I Fig. 1. The C-tapeta of surface of connective parenchyma begin the differentiation state at the P-tapeta (PT) formation (arrow), $\times 200$; Fig. 2. Showing the P-tapeta (PT) and the C-tapeta (CT), $\times 200$; Fig. 3. Showing the cytoplasm density of C-tapeta bigger than that of P-tapeta, $\times 200$; Fig. 4. Showing the degradation time of the C-tapeta earlier than that of P-tapeta, $\times 200$; Fig. 5. Showing the C-tapeta degradation, $\times 500$; Fig. 6. Showing the disappearing time of the C-tapeta earlier than that of P-tapeta, $\times 200$; Fig. 7. When the P-tapeta degrade its cytoplasm of the inner radial wall contracts firstly, $\times 2\ 500$; Fig. 8. Cytoplasm of the P-tapeta almost degrades completely, only Ubisch body and wall retain, $\times 1\ 000$.

Plate II Fig. 1. During the P-tapeta degrading the cell contents flow into loculus, $\times 8\ 000$; Fig. 2. In the early stage of microspore mother cell, the cell wall(W) of P-tapeta was loosed. There were little secrete granules at the surface of cytoplasm (arrow), $\times 25\ 000$; Fig. 3. In the early stage of microspore mother cell the cytoplasmic density of C-tapeta was big and having natural lipid. Smooth ER and lipid vesicles were rich and the cell wall was in Cotton-wool(arrow), $\times 15\ 000$; Fig. 4. During the meiosis there were lots of ribosomes and rough ER in P-tapeta, while the cell wall was in Cotton-wool. A great amount of secretory granules distributed in the cell wall of cotton-wool lead to it looked like honey comb in shape(arrow), $\times 10\ 000$; Fig. 5. Before the meiosis smooth ER and lipid vacuoles increased, the cell wall looked like honeycomb in shape too, $\times 8\ 000$; Fig. 6. Part of figure 5 amplification, showing the honeycomb-shaped cell wall and secretory granules, $\times 40\ 000$; Fig. 7. Early tetrad, showing the cytoplasm and the cell wall of rack shape of P-tapeta(The white arrow), $\times 6\ 000$; Fig. 8. Early tetrad, showing there were great amount smooth ER, lipid vesicles and vacuole in C-tapeta the cell wall was very thick and in good order, $\times 8\ 000$.

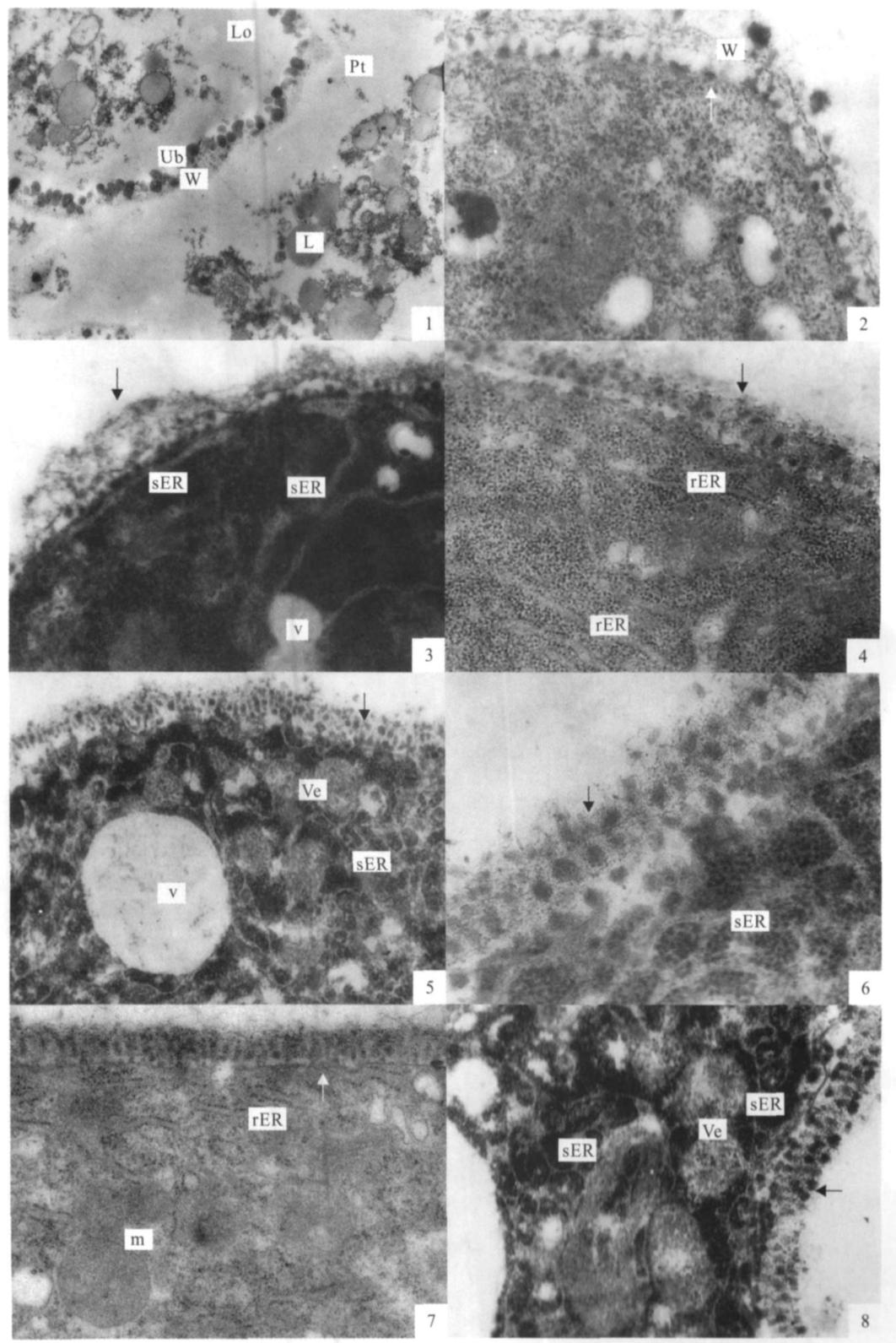
Plate III Fig. 1. Amplification of Plate II Figure 8, showing the cell wall in honey comb-shaped and secretory granules(arrow) and the plasmalemma disappeared, $\times 15\ 000$; Fig. 2. Dense granules is secreted into loculus from tapetal cells, $\times 5\ 000$; Fig. 3. Dense granules adhere to the tetrad surface, $\times 3\ 000$; Fig. 4. Amplification of figure 3, showing the dense granules of surface in tapetal callose and loculus, $\times 5\ 000$; Fig. 5. showing the plasmalemma and the cell wall with small secrete vesicles and vesicles membrane(arrow), $\times 15\ 000$; Fig. 6. At the time of callose wall dissolution, there were quite a lot electron-dense granules and various shapes secrete lumps in P-tapeta(The white arrow), $\times 8\ 000$; Fig. 7. Amplification of Figure 3, showing the secrete lump(The white arrow) and the distribution of dense granules, $\times 10\ 000$; Fig. 8. Showing the callose wall degradation quite a lot electron-dense granules and cell wall in honeycomb-shaped(arrow) in C-tapeta, $\times 15\ 000$.

Plate IV Fig. 1. Showing the early stage of microspore the mitochondria and lipid vesicles in the middle of rough ER heap, $\times 40\ 000$; Fig. 2. Showing rough ER of periclinal distributing, pro-Ubisch body and loosed cell wall in P-tapeta, $\times 20\ 000$; Fig. 3. Showing pro-Ubisch body located at the inside of cell wall in bird's nest shape. There was no plasmalemma, $\times 30\ 000$; Fig. 4. Showing the early stage of microspore, the cell wall in bird's nest shape (arrow), pro-Ubisch body and part plasmalemma, $\times 20\ 000$; Fig. 5. During the vacuolization of microspore, the cytoplasm was thin in P-tapeta, the plasma membrane was not complete, and pro-orbicules distributed in the surface of cell wall in sand shape, $\times 25\ 000$; Fig. 6. Part of figure 5 amplification, showing the plasmalemma wavy invaginated while the orbicules distributed in the outside sand-shaped cell wall (arrow), $\times 50\ 000$; Fig. 7. During the vacuolization of microspore organelles structure had blurred in P-tapeta while the orbicules distributed in the surface of cotton-shaped cell wall (arrow), $\times 10\ 000$; Fig. 8. In the late of stage microspore, most cytoplasm flowed into anther chamber, the plasmalemma disappeared completely, and the cell only by the cell wall in flocculent-shape maintained its shape, while there were still a lots orbicules in the surface of P-tapeta (arrow), $\times 25\ 000$.

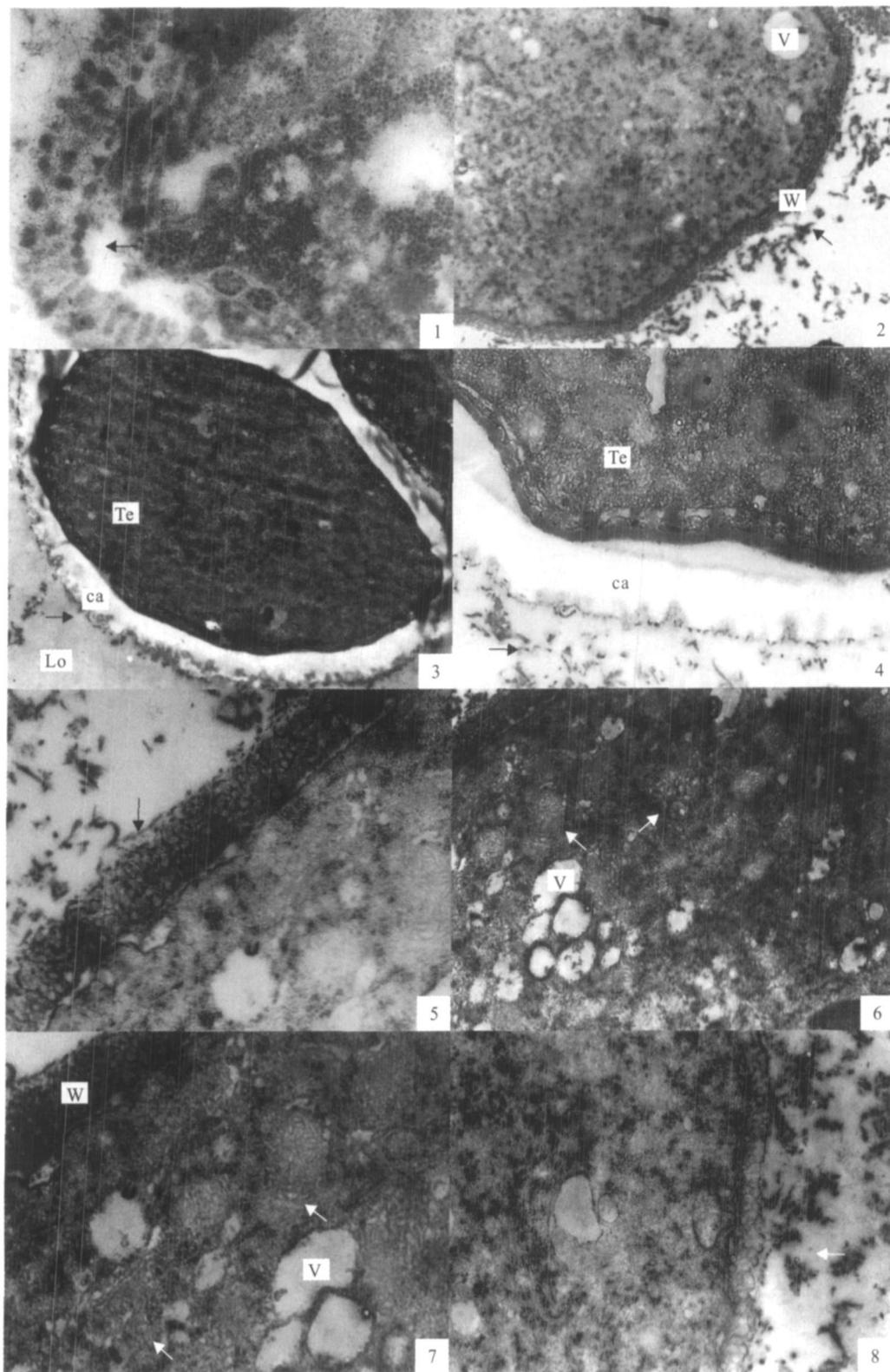
图版 I Plate I



图版 II Plate II



图版 III Plate III



图版 IV Plate IV

