



文章编号: 1000-4025(2010)06-1123-05

蓝猪耳花药发育中多糖和脂滴的组织化学研究

格日乐, 陈肖, 朱学艺, 田惠桥*

(厦门大学 生命科学学院, 福建厦门 361005)

摘要: 对蓝猪耳花药发育中营养物质的分布和转化过程进行组织化学研究, 结果表明: 在造孢细胞时期, 药壁细胞没有营养物质的积累, 但在造孢细胞中有少量的脂滴; 在小孢子母细胞时期, 表皮细胞中出现淀粉粒, 而在绒毡层细胞中出现脂滴, 小孢子母细胞中也有脂滴的分布; 在四分体时期, 四分体小孢子中出现淀粉粒, 绒毡层细胞脂滴增加; 在小孢子早期, 药室内壁细胞中出现淀粉粒, 绒毡层继续积累脂滴, 而小孢子中开始出现脂滴; 到小孢子晚期, 绒毡层细胞降解, 细胞残留物中出现较多脂滴; 在二胞花粉早期, 花粉中的大液泡消失, 花粉开始积累淀粉粒; 在即将开花的成熟花粉中则积累了大量的脂滴和少量的淀粉粒。蓝猪耳花药发育中多糖和脂滴两种营养物质的积累和分布具有一定的时、空特点, 反映出花药发育中营养物质积累的规律。

关键词: 蓝猪耳; 花药发育; 多糖; 脂滴

中图分类号: Q944.62 文献标识码: A

Cytochemical Study of Lipids and Polysaccharides on the Developing Anthers of *Torenia fournieri*

GE Rile, CHEN Xiao, ZHU Xue-yi, TIAN Hu-qiao*

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: The distribution of polysaccharides and lipid drops displayed some characters during the anther development of *Torenia fournieri*. At the sporogenous cell stage, neither starches nor lipids were in anther wall cells. Only a few lipids were in sporogenous cells. Before the meiosis of microspore mother cells, a few polysaccharides appeared in epidemic cells and a few lipid drops in tapetal cells which did not differentiate completely at this time. At the tetrad stage a few polysaccharides appeared in microspores and lipids in tapetal cells increased. After microspores were released from tetrads (early microspore stage), starches appeared in endothecium cells and lipids in tapetal cells still increased. A few lipids appeared in microspores. At late microspore stage, tapetal cells began to degenerate, there were many lipids in degenerating tapetal cells. At early bicellular pollen stage, pollen began to accumulate lipids. With pollen development, many lipids were accumulated in vegetative cell of nearly mature pollen.

Key words: *Torenia fournieri*; anther development; polysaccharides; lipid

高等植物花药发育是一个复杂的过程, 组成花药壁的 4 层细胞紧密相邻, 但形态、结构和功能截然

不同。药室中的雄配子体的发育更是呈一种骤变过程: 小孢子母细胞减数分裂后, 小孢子经不等分裂形

* 收稿日期: 2009-12-31; 修改稿收到日期: 2010-04-29

基金项目: 国家自然科学基金(30970275)资助

作者简介: 格日乐(1983-), 女(蒙古族), 在读硕士研究生, 主要从事植物发育研究工作。E-mail: gerile777@126.com

* 通讯作者: 田惠桥, 教授, 主要从事植物学研究工作。E-mail: htqian@xmu.edu.cn

成大小差异明显的生殖细胞和营养细胞,开始了雄配子体的发育。在花药发育过程中,如小孢子母细胞的胼胝质壁形成和四分体胼胝质壁的降解、小孢子中大液泡形成与二胞花粉中大液泡消失,绒毡层和中层细胞的中途退化等也都是花药发育的特色^[1]。然而,目前对这些现象的调控机制还不清楚。花药发育的一个特征是其作为营养物质的库大量积累体内他处转运来的营养物质。多糖、脂类营养物质的代谢也是花药发育的重要组成部分。已有的资料显示花粉中营养物质的积累具有一定的时空特性:一般是在小孢子分裂后的二胞花粉中才开始大量积累营养物质^[2-4]。在成熟的花粉粒中,通常积累了大量的淀粉或脂滴,为以后花粉萌发时利用。然而,在不同的植物花药的发育规律不尽相同,积累的营养物质也有差别。目前有关高等植物花药中的营养物质转运和转化的研究还不多,已发表的结果也因植物种类不同而有差异,对花药发育中营养物质转运和转化的规律还不清楚,需要进行更多的探索。蓝猪耳的经济价值虽然很小,但由于其特殊的胚囊结构,目前是研究受精机制的模式植物。本实验对蓝猪耳花药发育中营养物质的分布和转化过程进行组织化学研究,以了解该种植物花药发育中体内营养物质的运输特点和花粉储存物质的积累特征。

1 材料和方法

蓝猪耳种子于2008年3月中旬播种在花盆中,6月中旬植株可开花。分别取不同发育时期的花药,迅速投入到含2.5%戊二醛、50 mmol/L二甲胼酸钠(pH 7.0)缓冲液配制的前固定液中,室温固定3 h。用50 mmol/L二甲胼酸钠(pH 7.0)缓冲液配制的洗涤液洗涤3次,每次30 min,再将材料转入50 mmol/L二甲胼酸钠(pH 7.0)、1%锇酸配制的后固定液中,在4℃下固定过夜,次日用相同洗涤液洗涤3次,每次30 min。梯度系列丙酮脱水,Epon812树脂包埋。用Leica Ultracut R型超薄切片机做半薄切片,切片厚1 μm。染色步骤参照胡适宜和徐丽云的方法^[5],采用PAS反应标记细胞中的多糖物质,呈红色;用苏丹黑B复染细胞中的脂类物质,呈黑色。用Leica DM R显微镜观察与拍摄。

2 结果与分析

2.1 造孢细胞时期花药中的多糖和脂滴分布

蓝猪耳花药在造孢细胞时期就已经分化出各类细胞,花药壁由外向内依次是:表皮、药室内壁、中层

及绒毡层。表皮、药室内壁和中层细胞都存在液泡化现象。最里层的绒毡层细胞体积较小,呈扁平形。在绒毡层细胞以内的造孢细胞排列紧密,在其细胞质中有较多的小液泡。这个时期的花药中淀粉粒很少,只有零星的脂滴颗粒分布(图版iv, 1)。

2.2 小孢子母细胞时期花药中的多糖和脂滴分布

药室中的造孢细胞直接发育为小孢子母细胞。以胼胝质壁的形成作为小孢子母细胞的最初特征。此时,小孢子母细胞的核位于细胞中央,外面被一层红色的胼胝质壁包围,表明其多糖的性质。在小孢子母细胞内可见少量染成黑色的脂滴。这时期的花药壁细胞的结构发生了很大变化:表皮细胞中出现了染成红色的淀粉粒;药室内壁细胞的体积有所缩小;中层没有什么变化;绒毡层细胞的体积比以前明显增大,其中有一些细小的脂滴颗粒(图版iv, 2)。

2.3 四分体时期花药中的多糖和脂滴分布

蓝猪耳小孢子母细胞的减数分裂为连续型,形成的4个小孢子通常呈等四面体排列。在四分体小孢子中,有少数多糖颗粒出现,但脂类物质依然很少(图版iv, 3)。在花药壁的细胞中,表皮、药室内壁呈现出高度液泡化,中层细胞没有明显的形态变化,呈扁平状,其中出现一些多糖颗粒。以前绒毡层细胞质呈现红色的现象在这时已减弱了很多,而其中的脂滴颗粒明显增多。此时的绒毡层细胞壁完整规则,呈现红色,具有多糖性质(图版iv, 4)。

2.4 小孢子早期花药中的多糖和脂滴分布

小孢子从四分体中释放出后,细胞核位于中央,为小孢子早期,也称为单核中位期。此时的小孢子细胞中含有很少的脂滴和多糖颗粒。在预定形成萌发孔的部位被染成红色,可能是含纤维素性质的多糖(图版iv, 5)。花药壁的表皮和中层细胞的形态没有很大变化,药室内壁细胞红色多糖颗粒明显增多,集中分布在细胞面向药室一边,呈极性分布。绒毡层细胞形态已发生了一些变化,在细胞壁处的多糖红色消失,细胞界限变得不规则,内切向壁弯曲,在细胞中积累了较多脂滴和零星多糖颗粒(图版iv, 6)。

2.5 小孢子晚期花药中的多糖和脂滴分布

小孢子发育到后期时形成一个大液泡将细胞核挤到边缘区域,为小孢子不等分裂做准备,为小孢子晚期,也称为单核靠边期。此时小孢子细胞已形成了完整的花粉外壁,在细胞质中有少量的多糖颗粒,但没有脂滴积累(图版iv, 7)。此时,药壁中的绒毡层细胞已完全变形、退化,其中积累一些脂滴。而表皮、药室内壁和中层细胞的形态变化不大,中层和药

室内壁细胞中的多糖颗粒明显减少(图版 iv, 8)。

2.6 二胞花粉早期花药中的多糖和脂滴分布

小孢子有丝分裂后形成一个体积较小的生殖细胞和一个体积较大的营养细胞, 构成二胞花粉。在二胞花粉早期, 原来小孢子中形成的大液泡分解, 消失, 贴花粉壁分布的生殖细胞移动到营养细胞中。花粉粒中多糖颗粒依然不多, 但开始出现少量的脂滴(图版 iv, 9)。这时, 花药壁的表皮、药室内壁和中层细胞的结构完整, 但细胞高度液泡化, 其中的多糖颗粒比以前明显减少。绒毡层细胞已完全失去形状, 内部聚集了较多的脂滴(图版 iv, 10)。

2.7 成熟花粉时期花药中的多糖和脂滴分布

在开花前一天, 花粉已发育成熟, 内部充满脂滴和少量淀粉粒。此时花粉内壁也完全形成, 显示出红色, 表明其多糖性质(图版 iv, 11)。成熟花粉时期花药壁只剩表皮和药室内壁 2 层细胞, 中层及绒毡层完全退化。表皮细胞中有零星分布的多糖颗粒。药室内壁细胞的切向细胞壁上形成了一些径向突起, 但并不显示红色, 暗示这些突起是一些非糖类物质组成, 与药室内壁的细胞壁性质不同(图版 iv, 12)。

3 讨论

高等植物花药作为一个终端器官, 在发育中只吸收体内其他部位转运来的营养物质。花药中的大分子营养物质的正常运输和转化是其正常发育的一个重要环节。在白菜花药发育中, 由体内其他部位向花药输送的营养代谢物也是多糖, 在绒毡层细胞中多糖类物质被转化成脂类物质为发育中的花粉粒所利用。当花药即将成熟时, 绒毡层细胞完全消失, 在成熟花粉粒中储存了大量脂类颗粒^[6]。在枸杞花药发育中, 药隔和药壁组织最先出现淀粉粒, 接着在绒毡层中出现脂滴, 表明体内向花药转运的营养物质是多糖, 但在绒毡层细胞中多糖物质被转化成脂类物质供花粉粒吸收^[7]。在洋葱花药发育中, 绒毡层细胞中先出现淀粉粒, 之后在减数分裂时期脂滴明显增加, 之后退化绒毡层细胞中的脂类物质被二胞花粉吸收^[8]。在本实验中, 蓝猪耳花药在小孢子母细胞时期, 表皮细胞中有少量多糖, 药室内壁和中

层中未见此类营养物质, 绒毡层细胞含有少量脂滴。在小孢子母细胞中也只有较少脂滴, 没有淀粉粒多糖。减数分裂后, 花药壁细胞中, 尤其是绒毡层细胞中的脂滴增加, 表明此时是体内营养物质向花药中运转的主要时期。但在小孢子中的脂滴一直很少。到二胞花粉早期, 绒毡层细胞退化, 其细胞残迹中聚集了较多脂滴, 成为花粉吸收营养物质的主要形式。同时, 花粉中的脂滴也开始增加。到成熟花粉时期, 花粉中积累了大量脂滴作为储存物。

绒毡层细胞由于处于花药壁最内层, 具有转运及合成特异蛋白质、碳水化合物和脂类等功能, 对花粉发育起着极其重要的作用^[1, 9-11]。不同植物花粉中的储存物质类型不同, 主要是淀粉粒和脂滴。花粉中积累的营养物质类型与绒毡层的转化功能有关。然而, 被子植物花药绒毡层通常在小孢子早期或晚期就退化了, 而花粉中积累营养物质通常是在二胞花粉时期才开始, 如何解决绒毡层细胞退化早和花粉中积累营养物质晚的矛盾是一个值得探讨的问题。在中国鹅掌楸的成熟花粉粒中储存物质为淀粉, 绒毡层细胞将体内运转的糖类物质直接传递给花粉^[12]。白菜花粉的储存物质为脂类, 体内运输到花药的营养物质是多糖, 在小孢子发育时期, 药壁细胞中的淀粉粒消失, 绒毡层细胞中出现了大量脂滴, 暗示绒毡层细胞吸收多糖并将其转化为脂类物质。以后, 花粉吸收退化绒毡层细胞中的脂类物质为营养储存物^[6]。枸杞花药绒毡层细胞退化后, 其细胞中的脂滴流入药室中, 被二胞花粉吸收、积累。但枸杞成熟二胞花粉中除了积累脂滴外也积累了很多淀粉粒, 暗示花粉粒又将部分脂类物质转变为多糖类物质^[7]。在本实验中, 蓝猪耳花药壁的外 3 层细胞中都出现了淀粉粒, 但绒毡层细胞中只出现脂滴, 说明绒毡层细胞将体内运转的多糖转化为脂类物质并积累。绒毡层细胞退化后, 其细胞残迹中出现了大量脂滴, 成为二胞花粉吸收营养物质的主要形式。因此, 蓝猪耳花药绒毡层细胞以其退化后的残体作为二胞花粉的营养物质, 解决了其在小孢子晚期退化, 而其中的脂类被二胞花粉吸收的时间矛盾。

参考文献:

- [1] 胡适宜. 被子植物生殖生物学[M]. 高等教育出版社, 2005: 29- 92.
- [2] RUDRAMU NIYAPA C K, ANNIGERI B G. Histochemical observations on the sporogenous tissue and tapetum in the anther of *Euphorbia* [J]. *Cytologia*, 1985, 50: 39- 48.

- [3] TIWARI S C, GUNNING B E S. An ultrastructural cytochemical and immunofluorescence study of postmeiotic development of plasmodial tapetum in *Tradescantia virginiana* L. and its relevance to the pathway of sporopollenin secretion[J]. *Protoplasma*, 1986, 133: 100– 144.
- [4] CALZONI G L, SPERANZA A, CARAMIELTO R, PICCONE G, ZANNINI P. Wall ultrastructure and biochemical features of the *Juglans regia* L. and *Juglans nigra* L. male gametophyte[J]. *Sexu. Plant Reprod.*, 1990, 3: 139– 146.
- [5] HU SH Y(胡适宜), XU LY(徐丽云). A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin section[J]. *Acta Bot. Sin.* (植物学报), 1990, 32(11): 841– 846(in Chinese).
- [6] XIE CH T(谢潮添), YANG Y H(杨延红), ZHU X Y(朱学艺), TIAN H Q(田惠桥). Cytochemical observation of anthers of Chinese cabbages male-sterile line[J]. *J. Mol. Cell Biol.* (实验生物学报), 2004, 37(4): 295– 302(in Chinese).
- [7] XU Q(徐青), WANG X Q(王仙琴), TIAN H Q(田惠桥). The features of distribution of polysaccharide and lipid in the developing anther of *Lycium barbarum* L. [J]. *J. Mol. Cell Biol.* (分子细胞生物学报), 2006, 39(2): 103– 110(in Chinese).
- [8] WEI D M(魏冬梅), JIAN M X(菅明霞), DENG H(邓桦), ZHENG S(郑松), TIAN H Q(田惠桥). Cytochemical observation on the developing anthers of *Allium cepa* L. [J]. *J. Mol. Cell Biol.* (分子细胞生物学报), 2007, 40(6): 451– 457(in Chinese).
- [9] EL-GHAZALY G, JENSEN W A. Development of wheat (*Triticum aestivum*) pollen. ⑤. Histochemical differentiation of wall and Ubisch bodies during development[J]. *Amer. J. Bot.*, 1987, 74: 1396– 1418.
- [10] PACINI E, FRANCHI G G, HESSE M. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in *Embryophyta*[J]. *Plant Syst. Evol.*, 1985, 149: 155– 185.
- [11] PACINI E, FRANCHI G G. Diversification and evolution of the tapetum[A]. In: BLACKMORE S, BARNES S H. Pollen and Spores, Syst. Assoc. Spec. 44[M]. Clarendon, Oxford, 1991: 301– 316.
- [12] YIN Z F(尹增芳), FAN R W(樊汝汶). Cytochemical study on the microsporogenesis of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg[J]. *Bulletin of Botany* (植物学通报), 1998, 15(3): 34– 38(in Chinese).

图版说明:

标尺= 10 μm; Ep. 表皮细胞; En. 药室内壁细胞; ML. 中层细胞; T. 绒毡层细胞; Sc. 造孢细胞; MMC. 小孢子母细胞

图版 iv 1. 造孢细胞时期的花药壁已分化出了表皮、药室内壁、中层和绒毡层细胞, × 700; 2. 小孢子母细胞被具有多糖成分的胼胝质壁包裹, 其内有少量的脂滴, 绒毡层细胞的体积明显增大, 其内部也出现少量的脂滴, × 700; 3. 四分体小孢子中只有少数的多糖颗粒, × 700; 4. 同时期花药壁的药室内壁细胞中也出现了淀粉粒, 而绒毡层细胞中出现了脂滴, × 1 000; 5. 早期小孢子中含有少量的淀粉粒, 在预定形成萌发孔的部位聚集了一层多糖物质, × 800; 6. 同时期花药壁的药室内壁细胞中淀粉粒增多, 绒毡层细胞中的脂滴也增多, × 700; 7. 晚期小孢子已形成完整的花粉外壁, 在其细胞质中只有少量淀粉粒, × 800; 8. 同时期花药壁的药室内壁细胞中淀粉粒减少, 绒毡层细胞已退化, × 700; 9. 早期二胞花粉粒中出现脂滴, 但仍有少量的淀粉粒, × 800; 10. 同时期花药壁的表皮细胞、药室内壁、中层既没有淀粉粒也没有脂滴, 绒毡层细胞进一步退化, 细胞残迹中聚集了较多的脂滴, × 700; 11. 成熟花粉粒积累了大量的脂滴, 淀粉粒较少, × 800; 12. 成熟花药的药壁只由表皮和药室内壁两层细胞组成, 在表皮细胞中还有零星的淀粉粒, × 800.

Explanation of plate:

Bar= 10 μm; Ep. Epidermal cell; En. Endothecium cell; ML. Middle layer cell; T. Tapetal cell; Sc. Sporogenous cell; MMC. Microspore mother cells

Plate iv Fig. 1. Anther wall of *Torenia fournieri* consisted of epidermal, endothecium, middle layer and tapetal cells at the stage of sporogenous cell, × 700; Fig. 2. Microspore mother cells were wrapped by red callose wall and a few lipids appeared in the cells. The tapetal cells increased evidently and there were also a few lipids in the cells, × 700; Fig. 3. There were a few starches in the tetrad microspores, × 700; Fig. 4. At the same stage, starches appeared in endothecium cells and few lipids in the tapetal cells, × 1 000; Fig. 5. At the early microspore stage, a few starches appeared in microspores. A layer of polysaccharide material accumulated in the germ pore, × 800; Fig. 6. At the same stage, starches in endothecium cells increased and lipids in tapetal cells also increased, × 700; Fig. 7. At the late microspore stage, microspore has formed intact pollen exine and a few starches in its cytoplasm, × 800; Fig. 8. At this time, the starches in the endothecium cells decreased, and the tapetal cells degenerated, × 700; Fig. 9. Lipids appeared in the early bicellular pollen grains, and there were still a few starches in the cell, × 800; Fig. 10. At the same time, starches and lipids disappeared from the cells of epiderm, endothecium, middle layer. The tapetal cells continued to degenerate and many lipids accumulated in the cell residua, × 700; Fig. 11. There were many lipids and a few starches accumulated in the mature pollen, × 800; Fig. 12. Anther wall consisted of epidermal and endothecium cells at nearly anthesis. There were a few starches in the epidermal cells, × 800.

图版 iv Plate iv

