

凤仙花花药发育特征

杨淑娟^{1,2}, 成 诚¹, 宋铁蛋¹, 田惠桥¹

(1.厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005; 2.宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 凤仙花花药发育比较特殊: 在造孢细胞时期, 花药横切面中央是体积较大、细胞内含物较多的细胞团, 包括造孢细胞和绒毡层细胞。花药药壁细胞的细胞质较稀少, 与中部细胞界限明晰。花粉母细胞时期的花药药壁由约6层细胞组成, 但细胞的界限不明显; 绒毡层细胞显示变形流入药室中。到四分体时期, 绒毡层细胞进一步退化。开花时, 成熟花药的药壁细胞由一层表皮细胞、两层药室内壁细胞和一层中层细胞组成。对凤仙花花药绒毡层的特殊性质进行了讨论。

关键词: 凤仙花; 花药发育; 花粉; 绒毡层

Doi: 10.3969/j.issn.1009-7791.2013.04.001

中图分类号: Q944.6

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2013)04-0283-05

The Character of Anther Development of *Impatiens balsamina*

YANG Shu-juan^{1,2}, CHENG Cheng¹, SONG Tie-dan¹, TIAN Hui-qiao¹

(1.School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian China; 2.School of Life Science, Ningxia University Yinchuan 750021, Ningxia China)

Abstract: The anther development of the *Impatiens balsamina* displayed some special characters. In sporogenous cell stage, there are some large sporogenous cells, containing density cytoplasm, locating in the central of anthers. The cells of anther wall contain less cytoplasm which makes both distinguish. In the stage of microspore mother cell, the anther wall consists of 6 layers of cells, but the limit line is not clear between the cells. The tapetal cells begin to display the degeneration at this time. In tetrad stage, the tapetal cells degenerate further as the cells become small. The mature anther wall consists of four layers of cells: one layer of epidermis, two layers of endothecium, and one layer of middle layer. The special characters of tapetal cells of *Impatiens balsamina* were discussed.

Key words: *Impatiens balsamina*; anther development; pollen; tapetum

被子植物的花药结构复杂, 组成花药壁的四层细胞紧密相邻, 但四层细胞的形态、结构和功能截然不同。通常, 早期花药壁的表皮、药室内壁、中层和绒毡层各由一层细胞组成。随着花药的发育, 中层和绒毡层细胞中途退化, 成熟花药的药壁只由表皮和药室内壁两层细胞形成。在少数植物中, 中层细胞由多层细胞组成, 其最外层甚至保留到花药成熟时期。药室中的花粉发育也很特殊, 小孢子母细胞完成减数分裂后, 开始雄配子体发育, 小孢子经不等分裂形成大小差异明显的营养细胞和生殖细胞, 由生殖细胞在花粉粒或花粉管中分裂形成两个精细胞。此外, 在花药发育过程中, 小孢子母细胞的胼胝质壁形成和四分体的胼胝质壁降解、小孢子中大液泡形成与二胞花粉中大液泡消失、成熟花粉中积累大量淀粉或脂滴营养物质等也都是花药发育的特色^[1]。

凤仙花 *Impatiens balsamina* 是凤仙花科 *Balsaminaceae* 凤仙花属药用植物, 有活血化瘀、利尿解毒、

收稿日期: 2013-06-03

基金项目: 国家自然科学基金(31170289, 31100225)、公益性行业(农业)科研专项课题(200903016)资助

作者简介: 杨淑娟(1979-), 女, 宁夏吴忠人, 博士研究生, 从事植物生殖生物学研究。E-mail: nxyang11@126.com

注: 田惠桥为通讯作者。E-mail: hqtian@xmu.edu.cn

通经透骨之功效；鲜草捣烂外敷，可治疮疖肿痛、毒虫咬伤和跌打损伤；种子为解毒药，有催产、祛痰、消积块的功效。在我国南北各省均有栽培。对凤仙花的化学成分已有研究^[2]。凤仙花也可用作观赏植物，除作花境和盆景装置外，也可作切花。凤仙花用种子繁殖，但对其雌雄器官的发育还没有详细研究报导。本文对凤仙花花药发育进行结构观察，旨在了解该种植物花药发育的结构特征。

1 材料与方 法

凤仙花花药于2012年10月中旬采自厦门大学校园内。分别取不同发育时期的花药置于含2.5%戊二醛、50 mmol/L二甲胂酸钠（pH 7.0）缓冲液配制的前固定液中，4℃低温固定6 h。用相同缓冲液作为洗涤液换洗3次，每次30 min。将材料转入含1%锇酸、50 mmol/L二甲胂酸钠（PH 7.0）缓冲液配制的后固定液中，在4℃下固定过夜。次日用相同的洗涤液洗涤3次，每次30 min。换洗后的花药用梯度系列丙酮脱水，EPON 812树脂包埋。用Leica Ultracut r型超薄切片机制作半薄切片，切片厚1 μm。用1%甲苯胺蓝染色，Leica Dmr显微镜观察与拍摄。

2 结果与分析

2.1 造孢细胞时期

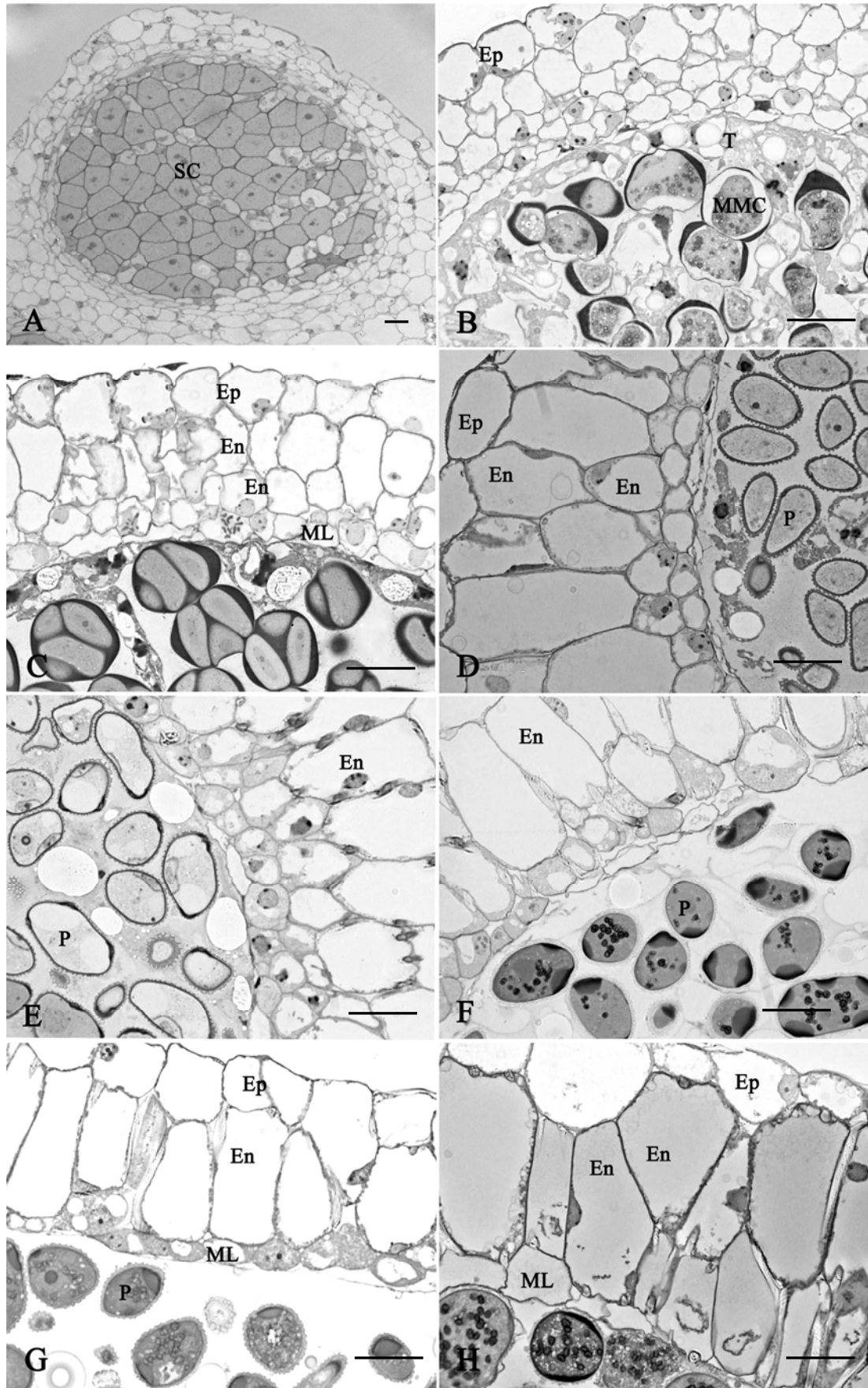
凤仙花花药在造孢细胞时期就已分化出组成花药壁的各类细胞和药室内的造孢细胞。组成花药壁的细胞不规则，有5~6层细胞，高度液泡化，染色较浅。药壁细胞的体积差异较大，从花药横切面上看，最外面的表皮细胞体积最大，向内依次减小，靠近造孢细胞的药壁最内层细胞的体积最小。从位置上判断，这层细胞应该是花药绒毡层细胞，但它并没有显示出明显特征，这与经典的花药绒毡层不同。在药室中央，是一些体积较大、细胞内含物较多、细胞中没有明显大液泡的造孢细胞。造孢细胞之间排列紧密，没有明显的胞间隙。有些造孢细胞内含物较少，染色较浅（图1-A）。在高倍显微镜下，这些造孢细胞呈现出退化状态。

2.2 小孢子母细胞时期

花药发育到小孢子母细胞时期，其体积明显增大，药室腔中小孢子母细胞之间有很大空隙。小孢子母细胞的另一特征是在细胞外形成了较厚的胼胝质壁，这是造孢细胞和小孢子母细胞的划分标准。由于小孢子母细胞之间的空隙有差异，其外部的胼胝质壁呈不均匀加厚。之前退化的造孢细胞此时内含物很少，外面也不形成胼胝质壁。此时，药壁细胞约有6层。最外层为表皮细胞，体积最大，较易区分。最内层是绒毡层细胞，绒毡层细胞与其他5层药壁细胞的差别比较明显，细胞质内含物较多，染色较深，细胞中有些大液泡。但绒毡层的细胞外形很不规则，有大有小。在表皮和绒毡层细胞之间是四层药室内壁和 中层细胞，这些细胞除了外侧较大，内侧较小的体积差别外，均为高度液泡化的细胞，仅在细胞壁部位染色较深，其余差别难以区分（图1-B）。

图1 凤仙花花药发育过程

- A. 造孢细胞时期的花药横切面，示花药中央的造孢细胞（SC）和外部的药壁细胞。
 - B. 花粉母细胞时期的花药横切面局部放大，花粉母细胞外形成了较厚的胼胝质壁。在花药壁组织中，最内层的绒毡层细胞（T）外形不规则。Ep：花药表皮。
 - C. 四分体时期的花药横切面局部放大，四分体小孢子的外形不规则。花药壁的绒毡层细胞进一步退化。绒毡层外侧的其它药壁细胞排列不规则。Ep：表皮；En：药室内壁；ML：中层。
 - D. 小孢子早期的花药横切面局部放大，示长形的早期小孢子（P）。花药壁的绒毡层细胞已基本退化。Ep：表皮；En：药室内壁。
 - E. 小孢子晚期的花药横切面局部放大，小孢子中的大液泡将细胞核挤到边缘。绒毡层细胞已消失。有些药室内壁细胞（En）开始出现细胞壁径向加厚的迹象。
 - F. 二胞花粉早期的花药横切面局部放大，花粉中的大液泡消失，细胞核移到花粉中央，开始积累淀粉粒。药室内壁细胞（En）的径向壁明显。
 - G. 花药接近成熟时，花粉内充满细胞质内含物，花粉壁也明显增厚。花药壁由表皮（Ep）、药室内壁（En）和中层（ML）细胞组成。
 - H. 开花时，花药壁中有两层细胞的径向壁加厚，呈现药室内壁（En）细胞的特征。Ep：表皮；ML：中层。
- 标尺=10 μm。



2.3 四分体时期

小孢子母细胞减数分裂形成的四个小孢子仍包裹在共同的胼胝质壁中，花药发育到四分体时期，用甲苯胺蓝染色的四分体胼胝质壁染色较深，4 个小孢子被包裹其中。四分体小孢子的外形不规则，呈扁平状。此时，花药壁细胞与其之前没有明显变化，最内层的绒毡层细胞外形比以前更加没有规则，细胞核也呈不定型形状。在附近有四分体的地方，绒毡层细胞质剩下很少部分，呈现出进一步退化状态。在绒毡层细胞之外的其他药壁细胞层没有什么变化，甚至有些细胞仍在分裂中（图 1-C）。

2.4 小孢子早期

从四分体中被释放出的小孢子细胞质浓厚，没有明显的液泡。游离的早期小孢子已有一层完整的花粉外壁。由于在四分体中，减数分裂形成的四个小孢子不规则，从四分体中释放的小孢子的横切面最初呈现长形。在药壁组织中，最内层的绒毡层细胞已降解为一些残迹，细胞之间不连续且没有明确外形。绒毡层细胞已与药壁其他细胞层分离。在最外层的表皮细胞状态仍与以前相同，高度液泡化。绒毡层与表皮之间的三层细胞除了内层细胞体积较小外，难以区分其他差异（图 1-D）。

2.5 小孢子晚期

小孢子发育到晚期时，细胞中央被一大液泡占据，将细胞核挤到边缘，通常称之为单核靠边期。小孢子外形仍然呈梭形，细胞核通常位于细胞长轴侧面，表明小孢子核的位置是受控制的。此时，药壁中的绒毡层细胞已完全降解，小孢子直接与中层细胞接触。在中层细胞外侧大的药壁细胞中，径向壁上有一些突起，这是药室内壁细胞的特征。此时，花药壁表皮以内的细胞开始分化，最内层为中层细胞，体积较小，而中层外侧的两层大细胞为药室内壁细胞（图 1-E）。

2.6 二胞花粉早期

凤仙花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。形成二胞花粉后，营养细胞继承的小孢子大液泡分解，花粉细胞质增加，开始积累营养物质。此时的花粉仍为长形，营养核位于中央，在核的周围出现一些较大的颗粒，很可能是淀粉粒。药壁的表皮细胞仍为一薄层细胞覆盖在花药的表面。药室内壁细胞的体积达到最大，其内切向壁和径向壁明显加厚，细胞中的内含物很少。在药室内壁细胞的内侧，是两层体积较小的中层细胞，其结构虽然完整，但细胞内含物也很少（图 1-F）。

2.7 成熟花粉时期

在开花的前一天，花粉已基本发育成熟，外形呈长椭圆形，内部充满内含物，包括一些较大的颗粒物质。成熟花药的药壁组织在不同部位有一定差异：在有的部位成熟花药壁由 3 层细胞组成，最外面是表皮，接下来是一层药室内壁细胞，最内层为体积最小的中层细胞（图 1-G）。但在有的部位，药壁细胞很不规则，药室内壁细胞显示为两层细胞，这两层细胞都具有径向壁加厚的特征（图 1-H）。

3 讨论

在花粉发育的一系列环节中，花药体细胞组织对花粉的发育有很大影响。花药绒毡层细胞具有腺细胞的特征，即细胞质浓厚、细胞器较多和多倍性特征。绒毡层细胞内含有大量的线粒体、内质网、核糖体和高尔基体等细胞器，表现出旺盛的代谢和合成能力^[3]。通常在小孢子母细胞减数分裂时期，绒毡层细胞核分裂，形成两个或多个核组成的合胞体，表现出活跃的代谢活力。绒毡层细胞在蛋白质、脂类、碳水化合物等合成上很活跃，而且合成具有阶段特异性^[4]。绒毡层细胞还具有极性分泌的特征，细胞中的物质以分泌小泡的形式定向转运到药室面，分泌到药室中，为小孢子发育提供所需营养物质^[5]。绒毡层细胞通常在形成二胞花粉之前开始退化，在花药成熟之前消失是其发育特征^[6]。但在不同的植物中绒毡层细胞的退化时间有差异。由于绒毡层所处的特殊位置，花粉形成过程中的所需要的各种营养物质必须通过绒毡层运输，或经过它的转化，或由其细胞解体来供应，所以绒毡层细胞的正常发育是花粉发育的基本保证，否则将导致花粉败育^[7-9]。花药绒毡层细胞的发育状态可在形态上反映出来。

白菜^[10]、枸杞^[11]等植物的花药绒毡层细胞在小孢子早期体积达到最大, 一层绒毡层细胞的厚度相当于外面三层细胞的厚度。之后, 绒毡层细胞的形态发生变化, 体积缩小, 最后完全退化。然而在本实验中, 凤仙花的花药绒毡层细胞没有体积明显增大特征, 在花粉母细胞时期, 绒毡层细胞的外形不规则, 显示出退化迹象。到四分体时期, 绒毡层细胞的退化迹象越发明显。花药绒毡层细胞在母细胞时期就退化的现象很罕见, 由此产生了一系列新问题: 分解四分体胼胝质壁的胼胝质酶是由绒毡层细胞合成的^[1], 绒毡层细胞很早退化后, 该酶从何而来? 花粉外壁的孢粉素是由绒毡层细胞合成孢粉素前体物分泌到药室中, 凤仙花绒毡层很早退化, 其小孢子是如何构建花粉外壁? 这些问题不同于典型的花药发育规律, 需要进一步探索。

凤仙花的花药壁组织比较特殊, 早期(造孢细胞时期)的花药壁由7层细胞组成。这些细胞外形上难以区分, 只能根据位置确定最外层的表皮细胞, 其他的药壁细胞很难区分, 尤其是最内层的绒毡层细胞与造孢细胞更难以区分。通常被子植物花药成熟时药壁只有两层细胞: 一层表皮和一层药室内壁细胞, 但凤仙花的成熟花药壁由四层细胞组成: 最外层为表皮, 邻近两层是具有径向壁加厚特征的药室内壁细胞, 最内层为体积较小的外中层细胞。这也是凤仙花花药发育的一个特点。

参考文献:

- [1] 胡适宜. 被子植物生殖生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 29-92.
- [2] 胡喜兰,朱慧,刘存瑞,等. 凤仙花的化学成分研究[J]. 中成药, 2003,25(10): 833-834.
- [3] 牛佳田. 花药壁及其中绒毡层的结构与功能[J]. 生物学通报, 1995,13(10): 8-9.
- [4] 张英涛,杨海东,陈朱希昭. 绒毡层研究进展[J]. 植物学通报, 1996,13(4): 6-13.
- [5] 李懿星,李莉,陈光辉. 高等植物花药绒毡层发育研究进展[J]. 作物研究, 2009,23(5): 287-289.
- [6] 张虹,梁婉琪,张大兵. 花药绒毡层细胞程序性死亡研究进展[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2008,26(1): 86-90.
- [7] 陆子梅,高国训,靳力争,等. 芹菜雄性不育花药发育的细胞学观察[J]. 华北农学报, 2007,22(1): 120-122.
- [8] 李振星,蔡雄. 细胞异常程序性死亡与植物雄性不育[J]. 江西农业学报, 2011,23(4): 115-117.
- [9] 王永行,董震生,董军刚,等. 甘蓝型油菜CMS212A与GMS1665A雄蕊败育的细胞学比较[J]. 西北农业学报, 2011,20(4): 66-69.
- [10] 徐青,祁建钊,秦慧,等. 宁夏枸杞异型绒毡层发育的超微结构特点[J]. 西北植物学报, 2009,29(12): 2452-2463.
- [11] 谢潮添,杨延红,朱学艺,等. 白菜细胞核雄性不育花药的细胞化学观察[J]. 实验生物学报, 2004(370): 295-302.