

## 芒果花药发育的细胞化学研究

马燕, 邓炜, 田惠桥\*

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

**摘要:** 芒果花药发育中, 花药药壁体细胞中淀粉粒多糖和脂滴类物质一直很少, 仅药室内壁细胞中有零星淀粉粒分布。到二胞花粉早期, 花粉营养细胞中的大液泡消失, 开始积累淀粉粒。芒果成熟花粉中储存营养物质主要是淀粉粒, 而脂类物质一直很少。

**关键词:** 芒果; 花药发育; 多糖; 淀粉粒; 脂滴

**中图分类号:** Q944.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)03-0338-04

## Cytochemical study on the developing anthers of *Mangifera indica*

MA Yan, DENG Wei, TIAN Hui-Qiao\*

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

**Abstract:** The distribution of polysaccharides and lipids was studied during the anther development of *Mangifera indica*. Only a few starches and lipids appeared in endothecium cells of anther wall during anther development. After mitosis of microspores, starches began to accumulate in the vegetative cell of bicellular pollen. At anthesis, mature pollen grains accumulated many starches as storage nutrition.

**Key words:** anther development; *Mangifera indica*; polysaccharides; starch; lipid

在被子植物花药发育中的细胞形态学变化是细胞生理功能转变的结果, 探讨花药组成细胞的生理功能是研究花药发育的基础。花药发育的一个特征是其作为营养物质的库吸收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。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(母锡金等, 1988; Rudramuniyapa & Annigeri, 1985; Tiwari & Gunning, 1986; Calzoni 等, 1990)。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(胡适宜, 2005)。然而, 在不同植物中花药的发育规律有一定差异, 积累的营养物质也有不同。目前有关高等植物花药中的营养物质转运和转化规律还不清楚, 需要进行广泛的探索。芒果花药发育中的营

养物质转运和转化特征还未见报道。本文对芒果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, 从花药组织结构的变化推测组成细胞的功能特征, 以了解被子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 材料与方 法

实验材料为生长在厦门大学校园里的多年生芒果, 每年3~4月开花。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二甲胂酸钠缓冲液配制的前固定液(pH7.0)中, 室温固定3 h。前固定后的花药用50 mmol/L二甲胂酸钠缓冲液(pH7.0)配制的洗涤液洗涤3次(每次30 min), 再转入50 mmol/L二甲胂酸钠、1%鞣酸配制

收稿日期: 2010-08-07 修回日期: 2010-12-09

基金项目: 国家自然科学基金(30970275)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30970275)]

作者简介: 马燕(1987-), 女, 安徽铜陵人, 硕士研究生, 从事植物发育生物学研究。

\*通讯作者: 田惠桥, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物学, (E-mail) hqtian@xmu.edu.cn.

的后固定液(pH7.0)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)。固定后的花药用梯度系列丙酮脱水,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等(1990)的方法,用PAS反应标记细胞中的多糖物质,呈现红色;用苏丹黑B复染细胞中的脂类物质,呈现黑色。用Leica DMR显微镜观察并拍摄。

## 2 观察结果

芒果的花药呈现标准的蝶形,在碟形的四片中分化出四个药室,每个药室的一半被四层花药壁细胞包围,另一半与药隔组织相连。在药隔组织中央是花药维管组织(图版I:1)。体内的营养物质通过维管组织运输到花药后,再通过药壁及药隔细胞转运到药室中。

### 2.1 造孢细胞时期

芒果花药在造孢细胞时期就已基本分化出了组成花药的各类细胞。虽然这些细胞的分化还不成熟,但各个细胞的界限还是可以辨别,花药壁由外向内依次是:表皮、药室内壁、中层及绒毡层。在绒毡层细胞内侧是排列紧密的造孢细胞。此时,花药表皮细胞和药隔细胞的细胞壁呈现较明显的红色,表皮以内细胞的细胞壁也呈现较弱的红色,显示细胞壁纤维素多糖性质。除在造孢细胞中有零星的脂滴外,花药组织中没有淀粉粒分布(图版I:2)。

### 2.2 小孢子母细胞时期

药室中由造孢细胞转变为小孢子母细胞的最明显特征是小孢子母细胞之间开始的胞间隙,此时,小孢子母细胞核位于细胞中央,外面被一层较厚的红色胼胝质壁包围,表明其多糖的性质。以胼胝质壁的形成作为小孢子母细胞的最初特征。这时期的花药壁细胞的结构较以前发生了一些变化:所有的细胞体积都有所增加。纤维素性质的细胞壁使各层细胞之间的界限清晰。此外,这时期的表皮细胞液泡化进一步增加;中层细胞呈现扁平状;而绒毡层细胞的体积不规则。这时期整个花药中的淀粉粒多糖很少,只在药室内壁细胞中有零星的淀粉粒,但药室内的红色较明显,暗示此时花药药室中已开始吸收糖类物质(图版I:3)。

### 2.3 四分体时期

芒果小孢子母细胞的减数分裂为连续型,形成

的四分体通常呈等四面体排列。四分体中的小孢子仍被多糖性质的胼胝质壁分割、包围,外形明显。与前一时期相比,花药壁的四层细胞变得更加规则,细胞的层次也更清晰,但没有明显的形态变化。此时的绒毡层细胞壁完整规则,呈现红色,具有多糖性质,而且面向药室的内切向壁染色比外切向壁要深,呈现多糖的极性分布。这时期花药中的淀粉粒依然不多(图版I:4)。

### 2.4 小孢子早期

四分体胼胝质壁溶解后,释放出的早期小孢子细胞质浓厚,细胞核位于中央,也称为单核中期。早期小孢子的花粉外壁已基本形成,但在萌发孔部位花粉外壁不连续,而是积累了较多的多糖物质,使小孢子的外形呈不规则形状。花药壁四层细胞的形态没有很大的变化,药室内壁细胞液泡化增加,绒毡层细胞壁的多糖红色变浅,径向壁开始溶解,细胞之间分开。这时期的花药中的淀粉粒仍不多,只在药室内壁细胞中有零星淀粉粒(图版I:5)。

### 2.5 小孢子晚期

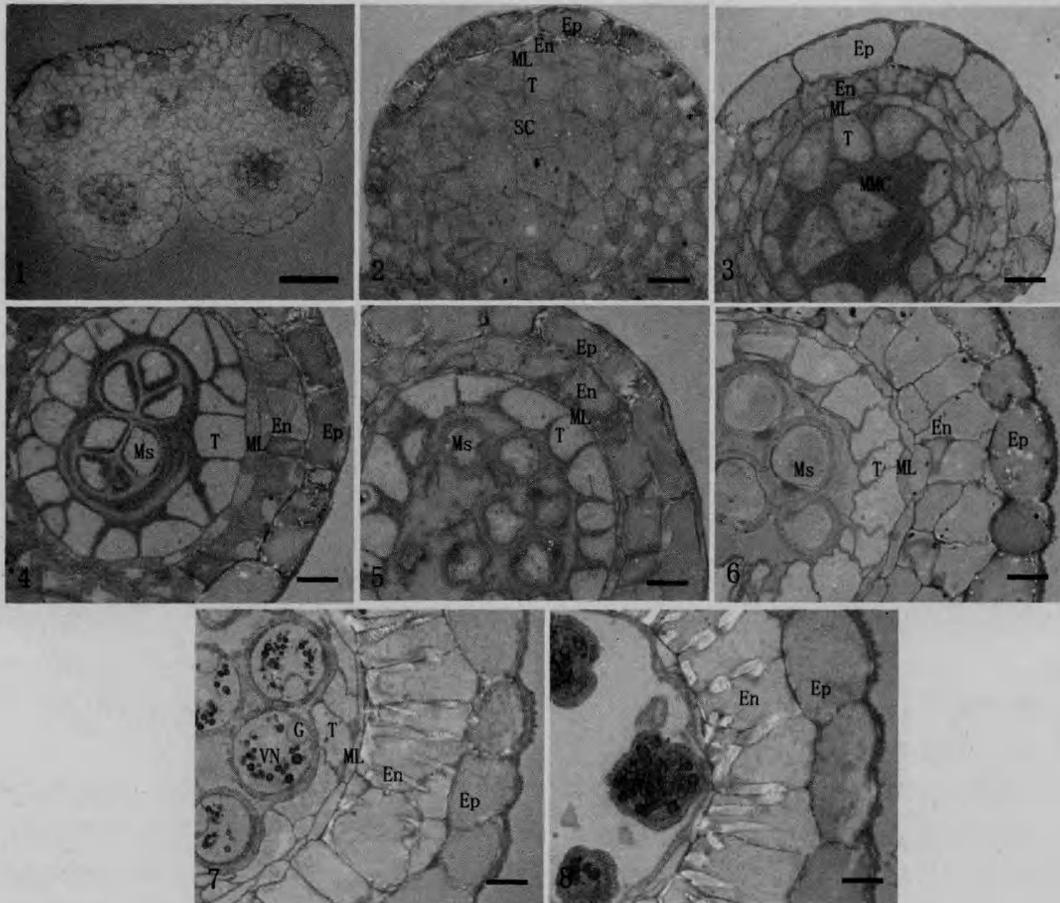
小孢子发育到后期时形成一个大液泡将细胞核挤到边缘区域,形成明显的极性,为小孢子的不等分裂做准备,为小孢子晚期,也称为单核靠边期。此时,小孢子体积有一定增加,花粉外壁也完全形成,花粉粒外形呈现球形。在小孢子细胞质中没有多糖物质积累。花药壁的组成细胞体积也有一定增加,尤其是药壁细胞液泡化显著,中层细胞的体积虽然也增大,但仍然呈片状,绒毡层细胞的外形不规则。整个花药中的多糖红色减弱(图版I:6)。

### 2.6 二胞花粉早期

小孢子有丝分裂后产生一个体积较小的生殖细胞和一个体积较大的营养细胞,形成二胞花粉。在二胞花粉早期,花粉外壁下面出现一层红色物质,为具有纤维素性质的花粉内壁。原来小孢子中形成的大液泡分解、消失。在花粉营养细胞中开始出现淀粉粒。花药壁的表皮,药室内壁和中层细胞的形态规则,在药室内壁细胞的内切向细胞壁上形成了一些突起,呈现淡红色,暗示含有纤维素成分。绒毡层细胞的外形严重变形,体积减小(图版I:7)。

### 2.7 成熟花粉时期

在开花的前一天,花粉已基本发育成熟,其中积累了较多的淀粉粒和少量的脂滴。此时,花药壁只剩下表皮和药室内壁两层细胞,中层及绒毡层细胞完全退化,只剩下一些细胞残迹(图版I:8)。



图版 I 1. 芒果的花药横切面呈现标准的蝶形; 2. 造孢细胞(SC)时期的花药壁出现了四层结构, 表皮(Ep), 药室内壁(En), 中层(ML)和绒毡层细胞(T), 但分化不完全; 3. 小孢子母细胞时期药室内壁(En), 中层(ML)和绒毡层细胞(T)出现明显区别。药室内壁细胞(En)的体积明显增大, 其内部也出现少量的淀粉粒。小孢子母细胞(MMC)被具有多糖成分的胼胝质壁包裹; 4. 四分体时期花药壁绒毡层细胞(T)中出现了淀粉粒(Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层), 四分体小孢子(Ms)中只有少数的脂滴; 5. 早期小孢子(Ms)中含有脂滴, 在预定形成萌发孔的部位聚集了一层红色多糖物质(Ep: 表皮; En: 药室内壁; ML: 中层; T: 绒毡层); 6. 晚期小孢子(Ms), 表皮(Ep)和药室内壁细胞(En)体积明显增加, 药室内壁细胞(En)某些部位横分裂, 出现两层结构, 绒毡层细胞(T)退化(ML: 中层)。小孢子细胞已形成完整的花粉外壁; 7. 早期二胞时期花药壁的表皮细胞(Ep), 药室内壁(En), 中层(ML)既没有淀粉粒也没有脂滴, 绒毡层细胞(T)进一步退化。花粉粒中出现淀粉粒。VN: 营养核; G: 生殖细胞; 8. 成熟花药的药壁只由表皮(Ep)和药室内壁(En)两层细胞组成, 成熟花粉粒积累了大量的淀粉粒和少量脂滴。图 1 中的标尺 = 100  $\mu\text{m}$  ( $\times 100$ ), 其它图片中 标尺 = 10  $\mu\text{m}$  ( $\times 700$ )。

Plate I 1. Transverse section of an anther of *Torenia fournieri* displayed papilionaceous shape; 2. At sporogenous cell stage, sporogenous cells(SC) were in the central of locu and there were a few lipids in SC. Ep: epidermis, En: endothecium, ML: middle layer, T: tapeta; 3. At microspore mother cell stage, the microspore mother cell(MMC) began to form callose wall. Neither starches and nor lipids were in the anther cells. Ep: epidermis, En: endothecium, ML: middle layer, T: tapeta; 4. At tetrad stage, there were still no starches and lipids in anther cells. Ep: epidermis, En: endothecium, ML: middle layer, T: tapeta, Ms: Microspore; 5. At the early microspore stage, a layer of polysaccharide material accumulated in the germ pore of pollen but still no starches and lipids in anthers. Ep: epidermis, En: endothecium, ML: middle layer, T: tapeta, Ms: Microspore; 6. At the late microspore stage, still no starches and lipids in anthers. Ep: epidermis, En: endothecium, ML: middle layer, T: tapeta, Ms: Microspore; 7. At early bicellular pollen stage, some starches appeared in the pollen grains. The tapetal cells(T) began to degenerate. VN: vegetative nucleus, G: generative cell; 8. At mature pollen stage, many starches and a few lipids accumulated in the mature pollen grains. The anther wall consisted of endothecium(En) and epidermis(Ep). Bar = 100  $\mu\text{m}$  ( $\times 100$ ) in fig. 1; bar = 10  $\mu\text{m}$  ( $\times 700$ ) in others.

### 3 讨论

被子植物花粉发育过程中, 花药中营养物质的正常运输和转化是一个重要环节。花药发育过程中营养物质的正常代谢和花粉发育有直接关系(Bhandari, 1984)。花药壁的绒毡层细胞是与花粉

最接近的体细胞, 植物体内的各种物质流入花药室中, 必须要经过绒毡层细胞并转化成花粉可以吸收的营养物质类型。绒毡层细胞具有转运及合成特异蛋白质、碳水化合物和脂类等功能, 对花粉的发育起着极其重要的作用(胡适宜, 2005; Pacini 等, 1985; El-Ghazaly & Jensen, 1987)。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。在花粉以淀粉粒为主要储存物质的植物中,体内转运到花药中的糖类物质可直接被花粉吸收转变为淀粉粒,如中国鹅掌楸成熟花粉粒中储存物质为淀粉,绒毡层细胞中也有淀粉出现,可理解为绒毡层细胞将体内运转的糖类物质直接传递给花粉(尹增芳等,1998)。对于花粉以脂滴为主要储存物的植物中,体内转运到花药中的糖类如何转化成花粉粒中的脂类物质的过程就比较复杂。白菜花药发育中,体内向花药输送的营养物质也是多糖,在减数分裂时期,花药壁的外三层细胞中积累了很多的淀粉粒,但在绒毡层细胞一直没有淀粉粒积累。在小孢子发育时期,药壁细胞中的淀粉粒消失,而绒毡层细胞中出现了大量脂滴,暗示体内转运来的多糖类物质在绒毡层细胞中被转化成脂类物质。以后,二胞花粉中出现了脂滴,是吸收了退化绒毡层细胞中的脂类物质为营养储存物。当花药即将成熟时,绒毡层细胞完全降解,在成熟花粉粒中储存了大量的脂类颗粒(谢潮添等,2004)。在枸杞花药发育中,也是在药隔和药壁细胞中最先出现淀粉粒,接着在绒毡层中出现脂滴,表明体内向花药转运的多糖物质在绒毡层细胞中被转化成脂类物质。在绒毡层细胞退化后,其细胞中的脂滴流入药室中,被二胞花粉吸收,积累。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(徐青等,2006)。在本实验中,芒果花药的药壁和药隔体细胞中一直既没有淀粉粒也没有脂滴物质积累。最后只在二胞花粉的营养细胞中才开始积累淀粉粒。到花粉基本成熟时,花粉中积累了大量的淀粉粒作为主要储存物。芒果花药中的营养物质

分布和上述其它植物中的分布都不同程度地反应出了植物花药营养物质积累的多样性特征。

### 参考文献:

- 尹增芳,樊汝汉. 1998. 中国鹅掌楸小孢子发生的细胞化学研究[J]. 植物学通报,15(3):34-38
- 母锡金,王伏雄,王文玲. 1988. 白头翁绒毡层和绒毡层膜的发育和组织化学研究[J]. 植物学报,30(1):6-13
- 胡适宜. 2005. 被子植物生殖生物学[M]. 高等教育出版社:29-92
- 胡适宜,徐丽云. 1990. 显示环氧树脂切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法[J]. 植物学报,32(11):841-846
- 谢潮添,杨延红,朱学艺,等. 2004. 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,37(4):295-302
- 徐青,王仙琴,田惠桥. 2006. 枸杞花药发育过程中脂滴和淀粉粒的分布特征[J]. 分子细胞生物学报,39(2):103-110
- Bhandari NN. 1984. The microsporangium[M]//Embryology of angiosperms. Johri BM (ed). Berlin. Heidelberg, New York, Tokyo:Springer:53-121
- Calzoni GL, Speranza A, Caramielto R, et al. 1990. Wall ultrastructure and biochemical features of the *Juglans regia* and *J. nigra* male gametophyte[J]. *Sex Plant Reprod*, 3:139-146
- El-Ghazaly G, Jensen WA. 1987. Development of wheat (*Triticum aestivum*) pollen. II. Histochemical differentiation of wall and Ubisch bodies during development[J]. *Am J Bot*, 74:1 396-1 418
- Pacini E, Franchi GG, Hesse M. 1985. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in *Embryophyta*[J]. *Plant Syst Evo*, 149:155-185
- Rudramuniyapa CK, Annigeri BG. 1985. Histochemical observations on the sporogenous tissue and tapetum in the anther of *Euphorbia*[J]. *Cytologia*, 50:39-48
- Tiwari SC, BES Gunning. 1986. An ultrastructural cytochemical and immunofluorescence study of postmeiotic development of plasmodial tapetum in *Tradescantia virginiana* and its relevance to the pathway of sporopollenin secretion[J]. *Protoplasma*, 133:100-144

## 更正

发表于本刊 2011 年第 2 期的《云南东南部楼梯草属二新种》一文,由于排版出错,需作如下更正:

P144 右栏中:“腺点楼梯草 *Elatostema adennophorum*”中的种加词“*adennophorum*”更改为“*adenophorum*”。

在此对作者表示歉意。

《广西植物》编辑部