

鹅掌楸花粉败育过程的超微结构观察*

尹增芳 樊汝汶

(南京林业大学, 南京 210037)

摘要 花粉败育是限制鹅掌楸 [*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.] 生殖成功的重要因素之一。败育多数发生在四分体形成之前, 少数发生在小孢子形成以后, 是由于花粉发育过程中存在异常现象造成的。异常现象有 7 个方面: (1) 造孢组织解体; (2) 小孢子形成过程中胼胝质的积累与降解异常; (3) 绒毡层发育异常; (4) 小孢子母细胞胞质分裂异常; (5) 小孢子解体; (6) 生殖细胞败育; (7) 药隔维管束韧皮部的伴胞解体。这些原因可引起花粉产量和质量降低, 从而影响鹅掌楸生殖过程中的传粉受精及结籽的能力。

关键词 鹅掌楸; 花粉; 败育; 生殖

The ultrastructure observation on the abortion of *Liriodendron chinense* pollen Yin Zeng-Fang and Fan Ru-Wen (Nanjing Forestry University, Nanjing 210037), *J. Plant Resour. & Environ.* 1997, 6(2): 1~7

The abortion of pollen is one of the important factors to restrict reproduction success of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. Most pollen abortion occurred before the formation of tetrad, some occurred after the formation of microspore, it dues to abnormal phenomena in the process of development of pollen. Seven aspects of abnormal phenomena are as follows: (1) The degeneration of sporogenous tissue; (2) The abnormality of accumulated and degenerated callose; (3) The abnormal development of tapetum; (4) The abnormal division of microspore mother cell cytokinesis; (5) The degeneration of microspore; (6) The abortion of generative cell; (7) The abortion of companion cell of phloem of anther connective vascular bundle. It lead to the dropping of the production and the quality of pollen, which results in decreased fertilization and seeding capacity.

Key words *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.; pollen; abortion; reproduction

鹅掌楸 [*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg.] 是木兰科鹅掌楸属植物, 在被子植物中处于较原始而孤立的地位, 虽然分布区较广, 但在区内零星分布, 很少有较大的居群, 而且结籽率较低, 被列为国家二级珍稀濒危保护植物。从生殖生物学的角度来研究鹅掌楸的濒危机制已取得一定进展, 有关鹅掌楸花粉品质与花粉管生长及其对结籽率的影响也曾作过系统的报道^[1], 初步了解了花粉的生活力状况, 发现花粉的平均 FCR 值为 64%, 而且传粉后部分花粉不能正常萌发形成花粉管。花粉的正常发育是实现受精结实的保证, 为此作者对鹅掌楸雄配子体的发育进行了研究^[2], 并进一步观察花粉发育过程的异常现象, 以期了解鹅掌楸花粉败育的细胞学特征, 为揭示鹅掌楸的濒危机制, 进一步改进遗传育种措施及丰富现代胚胎学理论提供基础资料。

* 国家自然科学基金重大项目资助课题

收稿日期 1997-01-06

1. 材料与 方法

1.1 材料

材料选自南京林业大学校园内栽培的鹅掌楸单株, 33年生, 生长良好。

1.2 实验方法

1.2.1 采样 1989年开始采样, 3月至4月上旬每隔2d采集花药, 4月下旬至5月下旬每隔7d采集, 1990年重复采样。

1.2.2 透射电镜样品制作 常规电镜制样, 超薄切片机切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色, H-600型透射电镜观察拍照。

2. 观 察 结 果

鹅掌楸花粉大部分能够正常发育, 但在部分花粉发育过程中可观察到下列异常现象:

2.1 造孢组织解体

花药发育早期, 在初生壁细胞分化还不明显时, 造孢组织部位往往出现空腔, 电镜观察发现败育的初生造孢细胞内原生质体的结构模糊不清, 常见同心环膜状体, 细胞壁弯曲程度较大(图版 I-1, 2), 败育的次生造孢细胞的细胞质往往皱缩解体(图版 I-3), 后来造孢细胞退化成一团没有结构的物质。

2.2 胼胝质异常积累与降解

(1) 小孢子母细胞外被一层厚厚的胼胝质壁, 细胞核不分裂, 多核仁, 有的核仁内出现空泡, 局部细胞质解体(图版 I-4)。(2) 小孢子母细胞的胼胝质壁过早降解或无胼胝质壁, 小孢子母细胞仅具纤维素的壁, 细胞内出现大量小泡, 在此情况下, 有的小孢子母细胞核分裂的细线期、偶线期正常, 但核形状为裂瓣状(图版 I-5)。此时药室中大部分小孢子母细胞败育, 没有观察到此情况下核分裂的后期状态。(3) 四分体小孢子后期, 小孢子已经开始形成孢粉的壁, 但是原来的四分体小孢子的胼胝质壁未降解, 小孢子细胞质空泡化(图版 I-6)。

2.3 绒毡层发育异常

(1) 绒毡层细胞早期退化。在正常情况下, 绒毡层细胞在小孢子四分体形成后逐渐退化^[2], 但是发育异常的绒毡层细胞在小孢子母细胞时期和造孢组织时期就已退化解体, 退化方式有两种: 一是细胞壁降解消失后, 绒毡层于原位形成原生质团(图版 I-7)。二是绒毡层细胞的原生质团进入药室包围败育中的小孢子母细胞(图版 I-5)。退化绒毡层细胞内出现了许多自噬体小泡, 内含被降解了的细胞器及细胞质的残余物, 而且自噬体小泡能相互溶合成大泡, 在自噬体泡的周围分布了大量线粒体, 细胞质已大部分解体, 称之为“细胞空泡化”(图版 II-1, 2)。(2) 绒毡层细胞肥大生长, 这种现象极个别, 绒毡层细胞高度液泡化, 因而体积特别大, 几乎充满整个药室, 在药室中有一些染色很深的物质, 可能是被挤压而解体的次生造孢细胞, 甚至在四分体小孢子时期, 也可观察到肥大生长的绒毡层细胞尚未解体, 这时四分体小孢子胼胝质壁局部破裂, 细胞质外溢至药室内。

2.4 小孢子母细胞胞质分裂异常

在减数分裂过程中,缢裂沟与胼胝质壁的延伸方向混乱,不能准确地为中心定位融合,胼胝质壁过度延伸或无定向延伸(图版Ⅱ-3),此时四分体小孢子细胞内细胞器大部分解体,观察发现环状内质网包围着解体的细胞器(图版Ⅱ-4)。

2.5 小孢子解体

正常状态下的小孢子具有浓厚的细胞质和一个位于中央的核^[2],败育小孢子的细胞质往往出现解体现象,细胞空泡化或细胞质凝缩,最后退化消失。而且小孢子的形态也极不规则,形态各异(图版Ⅰ-6)。

2.6 生殖细胞败育

生殖细胞发育早期正常,在发育后期,生殖细胞的细胞质和细胞器降解成为一团团染色很深的块状物或环状物,无法区分细胞的内部结构。败育的生殖细胞外依然环绕着大量的脂质小泡(图版Ⅱ-5)。

2.7 药隔维管束韧皮部伴胞解体

药隔维管束对花粉发育过程中的营养供应起到非常重要的作用。电镜观察发现其韧皮部的伴胞发育异常,细胞质不呈正常的均质状态,而为大块染色很深的物质所充填,电镜观察这块物质无任何细胞器及清晰的内膜系统(图版Ⅱ-6)。

3. 讨 论

3.1 败育细胞的细胞学特征

近年来,有关植物细胞衰亡过程的超微结构研究取得了一定的进展,如小麦花药中层细胞^[5]、小麦衰退珠心细胞^[4]等。尤瑞麟^[4]报道小麦珠心细胞有两种不同的衰退方式,一是细胞质原位自溶;二是通过粗糙内质网增生、槽库膨大及其对细胞组份分隔,最后原生质体收缩成一团暗黑色的无结构物质。作者认为鹅掌楸败育的造孢组织、小孢子母细胞、四分体小孢子、小孢子和绒毡层细胞的衰退方式均与第一种方式类似,细胞内出现由单层界膜包围的电子密度较低的区域,可能是由细胞质溶解后新形成的小液泡,称之为“自噬体小泡”,此时很难观察到清晰的内膜系统,说明细胞质已被降解成碎片状,但有时可见一些同心环内质网包裹着正在解体的细胞器,同心环内质网的出现与细胞衰退密切相关。而败育生殖细胞为一团暗黑色的无结构的物质,其衰退过程是否属于第二种方式有待进一步观察研究。

3.2 花粉败育的原因

有关资料表明,不同植物甚至同一种植物,花粉败育的形态、败育的时期也各不相同,对败育的原因也有不同的解释^[3,9],根据对鹅掌楸花粉发育过程的超微结构观察,其发生败育的原因可以总结为以下两个方面:

3.2.1 胼胝质的异常积累与降解 小孢子发生过程中胼胝质壁的生理作用一直是许多研究者注意的焦点^[6]。在鹅掌楸小孢子发生过程中,小孢子母细胞的壁同时发生特殊变化,即进入减数分裂时逐渐沉积胼胝质的壁,当减数分裂完成时,四个小孢子被共同的胼胝质壁所包围,最后由于胼胝质壁的溶解,四个小孢子分开,然后进一步发育形成雄配子体^[2,7]。正常的小孢子母细胞的胼胝质壁较薄,异常的小孢子母细胞的胼胝质壁较厚或根本未形成胼胝质壁,在此两种情况下,小孢子母细胞均不能进行正常的减数分裂。胼胝壁的功能如同“分子筛”,它

容许营养物质通过,阻止大分子物质通过,并保护已改组的小孢子母细胞不再受邻近孢子体信息的干扰,从而转向单倍配子体的发育^[6],作者推测,鹅掌楸小孢子母细胞过厚的胼胝质壁可能导致小孢子母细胞营养物质供应不足,小孢子没有足够的物质和能量储备以完成减数分裂;而缺少胼胝质壁的小孢子母细胞无法抵御来自邻近的其他孢子体信息的干扰,使减数分裂不能正常有序地进行。前期的工作结果表明^[7],在鹅掌楸小孢子母细胞减数分裂过程中,胞质分裂异常,缢裂沟与胼胝质壁的延伸方向混乱,不能准确定位融合,这是由于胼胝质壁过度或局部生长不足或无定向生长造成的。由于胼胝质壁的异常积累,可能导致胞质重组发生紊乱,影响小孢子进一步发育。在四分体小孢子形成后,小孢子在胼胝质壁内就已开始形成壁物质,但如果胼胝质壁未能及时降解,小孢子不能获得足够的、由绒毡层细胞提供的孢粉素和其他降解产物促其进一步发育,小孢子自身细胞质也会发生降解,最后死亡。

3.2.2 花粉败育与营养物质供应的关系 在一些农作物如小麦、甜菜、番茄^[9~11]不育花药和花粉的败育与提供营养的组织——花丝维管束组织和绒毡层细胞有着密切的关系,鹅掌楸花粉败育过程也存在类似的现象,电镜观察结果表明,药隔维管束韧皮部伴胞的细胞结构异常。伴胞为一种生理活动十分活跃的细胞,辅助筛管运输功能的发挥,由于伴胞解体死亡,影响了营养物质的输送,很可能由于没有充分的营养供应造成花粉各发育阶段的败育。

鹅掌楸花药绒毡层在小孢子发生中起重要作用:(1) 转运营养物质;(2) 适时合成胼胝质酶,分解包围四分体小孢子的胼胝质壁;(3) 参与花粉壁组成物质的合成^[8]。鹅掌楸花粉的败育与绒毡层发育异常密切相关,由于绒毡层早期解体,导致造孢组织、小孢子母细胞失去转运营养物质的桥梁,使其缺乏营养物质供应而不能继续发育,或因此过早地释放胼胝质酶溶解小孢子母细胞的胼胝质壁,干扰减数分裂的正常进行。绒毡层细胞肥大生长只存在于个别花药中,这种延迟退化现象在小麦,尤其是雄性不育系小麦中也有报道^[3]。我们认为这种绒毡层往往影响小孢子发育的较后时期,虽然减数分裂能够正常进行,但成熟花粉粒数量减少。

3.3 花粉败育与鹅掌楸濒危相关

有关资料表明,不育系花粉的败育,在双子叶植物中多发生在四分体形成之前,单子叶则多在双核期或接近双核期的花粉^[6]。鹅掌楸花粉的败育与不育系双子叶植物极为相似,败育多发生在四分体形成之前(包括四分体形成期),此种花粉囊中正常状态的四分体数量极少,后期小孢子也有败育现象,但数量相对较少。由于花粉发育的各个阶段都有败育现象,其结果最终都可能导致花粉产量和质量的降低,进而影响鹅掌楸的结籽率。一种濒危植物的致濒原因可能是多方面的,其中花粉败育是濒危植物内在因素之一,前期研究结果表明鹅掌楸传粉的适合度很低,传粉到柱头上花粉的数量少,而有效的异花花粉就更少,其直接结果可能是结籽率极低;花粉萌发实验也证明鹅掌楸花粉的萌发率不高,不同年份和不同发育时期其萌发率也有很大差异^[1],其直接原因可能是花粉的败育。由于可育花粉的数量较少,最终造成鹅掌楸种子的生活力低,不能完成正常的天然更新,从而引起濒危。

诚然,超微结构水平的观察能够提供花粉败育发生的时间和怎样败育的情况,但只能作为探索花粉败育机理的参考,影响花粉发育的因素是多方面的、综合的,今后应在花粉细胞生理生化、生态因子的影响等方面作综合研究,以期进一步解决花粉败育问题。

• 方炎明,鹅掌楸居群保护生物学研究,博士学位论文,1995,82

参 考 文 献

- 1 周 坚,樊汝汶. 鹅掌楸属两种植物花粉品质和花粉管生长的研究. 林业科学, 1994, 30(5):405~411.
- 2 尹增芳,樊汝汶. 中国鹅掌楸雄配子体发育的超微结构研究. 植物资源与环境, 1994, 3(1):1~8.
- 3 北京大学生物系遗传育种专业. 雄性不育和雄性可育小麦花药和花粉发育的细胞形态学观察. 北京大学学报, 1976, 18(2):141~149.
- 4 尤瑞麟. 小麦珠心细胞衰退过程的超微结构研究. 植物学报, 1985, 27(4):345~353.
- 5 陈朱希昭. 太谷核不育小麦花药中层发育的研究. 植物学报, 1986, 28(3):245~249.
- 6 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京:人民教育出版社, 1982.
- 7 樊汝汶,尹增芳. 中国鹅掌楸花粉母细胞减数分裂的超微结构观察. 南京林业大学学报, 1992, 16(2):31~36.
- 8 Fan R W, Yin Z F. Ultrastructure of development of the tapetum in *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. Chinese J Bot, 1995, 7(2): 133~138.
- 9 Laser K D. A light and electron microscope study of stamen vascular bundle in cytoplasmic of male sterile and normal *Sorghum bicolor*. Amer J Bot, 1972, 59: 653 (Abstract).
- 10 Alam S, Sandal P C. Cyto-histological investigations of pollen abortion in male-sterile Sudan-grass. Crop Sci 1967, 7: 587~589.
- 11 Joppa L R, Neal F H Mc, Welsh J R. Pollen and anther development in cytoplasmic male sterile wheat (*Triticum aestivum* L.). Crop Sci 1966, 6: 296~297.

(责任编辑:许定发)

图版说明 Explanation of plates

图版 I

1, 2. 造孢细胞的一部分, 示弯曲的细胞壁(CW), 解体的细胞质(CYP)及其内的同心环膜状体(MF)(1)×8000; (2)×20000; 3. 败育的次生造孢细胞, 示收缩解体的细胞质(CYP)×2000; 4. 败育的小孢子母细胞, 示其厚厚的胼胝质壁(CAW)和解体的细胞质(CYP)×2000; 5. 无胼胝质壁的小孢子母细胞, 示偶线期的核(N)×2000; 6. 小孢子发育初期, 示四分体小孢子未降解的胼胝质壁(CAW)和正在解体的小孢子(MI)×6000; 7. 小孢子母细胞时期, 示绒毡层于原位形成周原生质团(PLD)×1500.

Plate I

1, 2. A part of primary sporogenous cell, showing the curved cell wall, the disintegration cytoplasm and the myelin figure. (1)×8000; (2)×20000; 3. The abortion of secondary sporogenous cell, showing the disintegration of cytoplasm. ×2000; 4. The abortion of microspore mother cell, showing the thick callose wall and the disintegrated cytoplasm. ×2000; 5. No callose wall of the microspore mother cell, showing the nucleus. ×2000; 6. The early stage of development of microspore mother cell, showing the disintegrated callose wall of tetrad and the disintegrating microspore. ×6000; 7. The stage of microspore mother cell, showing periplasmodia formed by degenerated tapetum. ×1500.

图版 II

1. 绒毡层细胞内的自噬体小泡(AV)×5000; 2. 绒毡层细胞内的同心环膜状体(MF)×10000; 3. 四分体小孢子时期, 示其不规则的胼胝质壁(CAW)×1500; 4. 败育的四分体小孢子, 示其细胞内的环状内质网(CER)和解体的细胞质(CYP)×5000; 5. 败育的生殖细胞(GC)×12000; 6. 花药维管束横切面, 示败育的伴胞(CMC)×2000.

Plate II

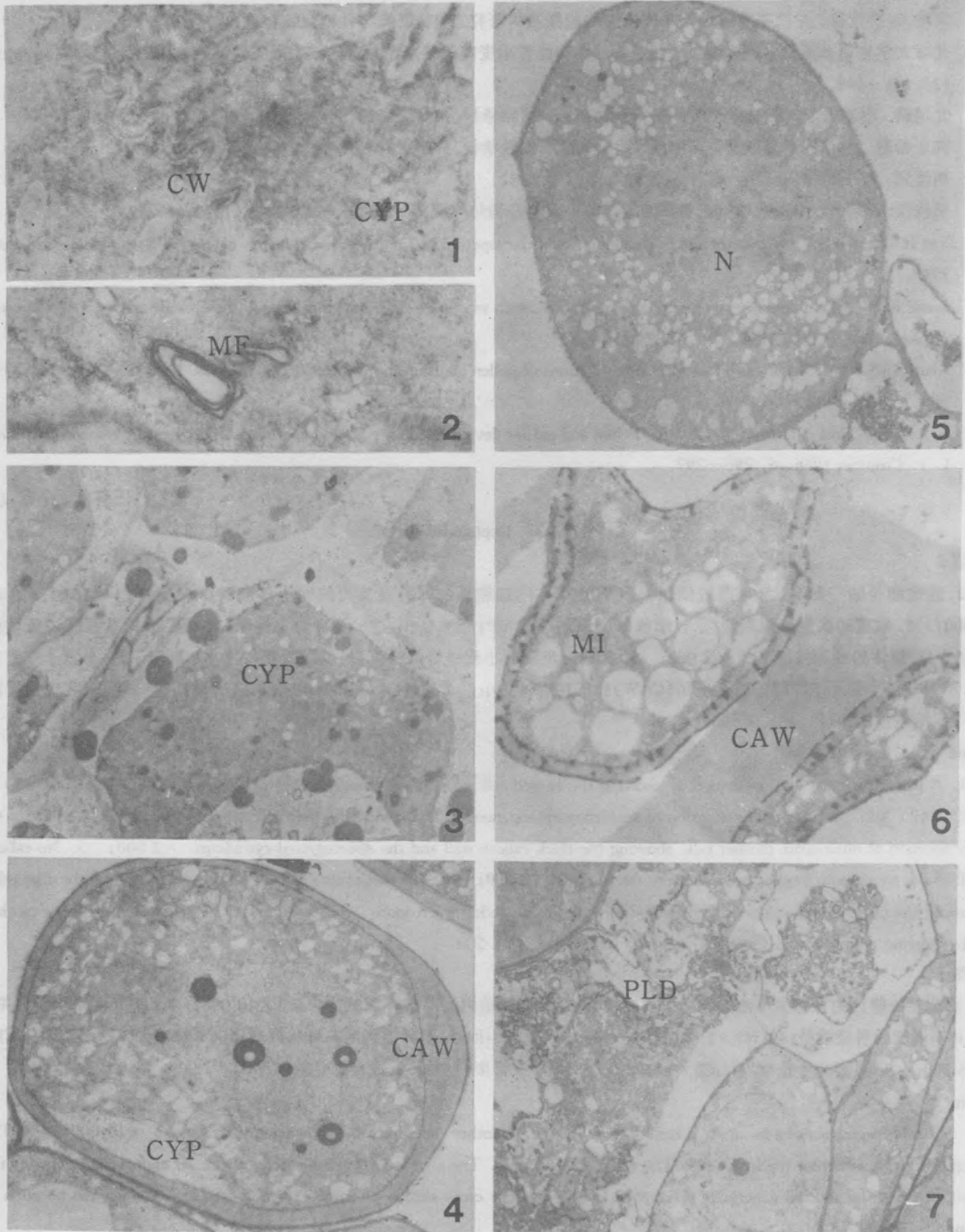
1. The autophagic vacuoles in tapetum cell. ×5000; 2. Another tapetum cell, showing myelin figure. ×10000; 3. The stage of tetrad, showing the irregular callose wall. ×1500; 4. The abortion of tetrad, showing circular endoplasmic reticulum×5000; 5. The aborted generative cell. ×12000; 6. The cross section of anther vascular bundle, showing the abortion of companion cell. ×2000.

尹增芳等: 鹤掌楸花粉败育过程的超微结构观察

图版 I

Yin Zeng-Fang *et al*: The ultrastructure observation on the abortion of *Liriodendron chinense* pollen

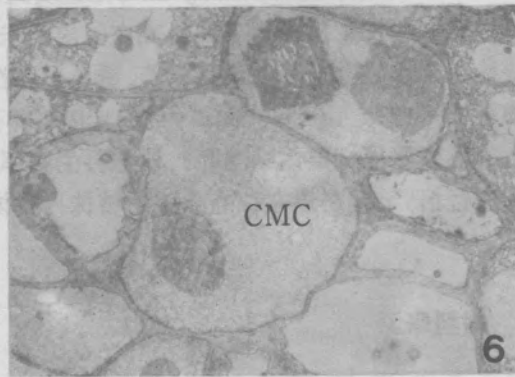
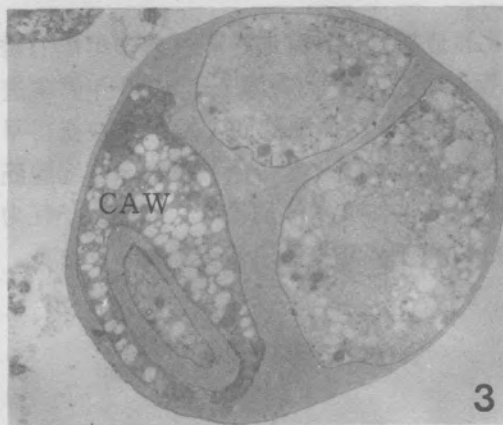
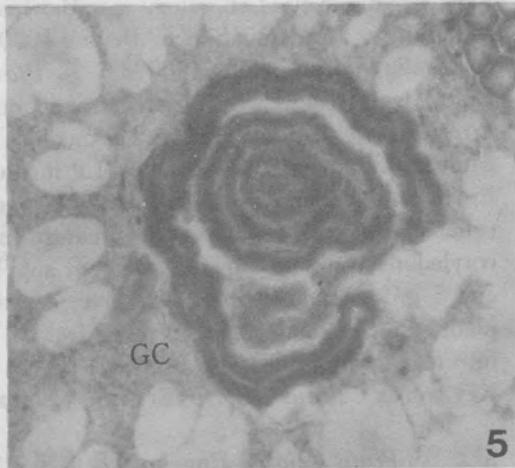
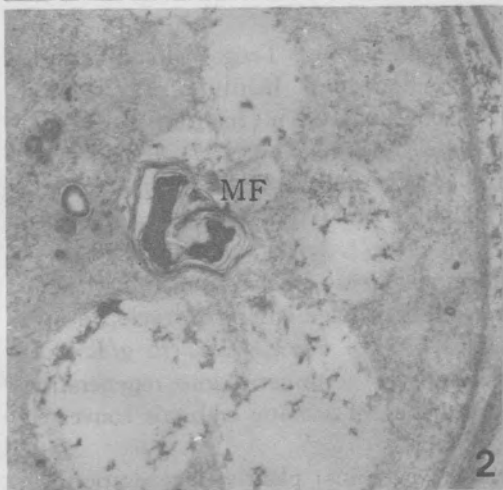
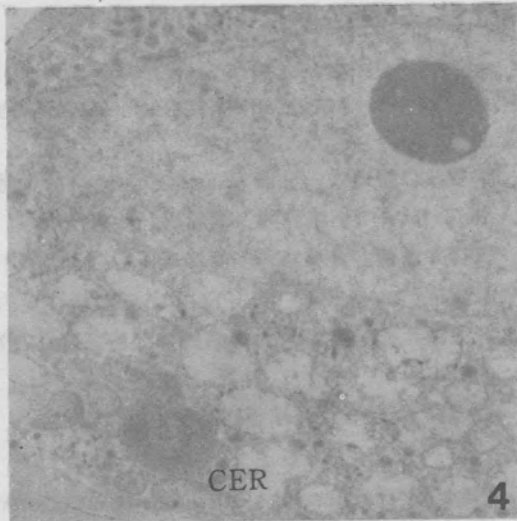
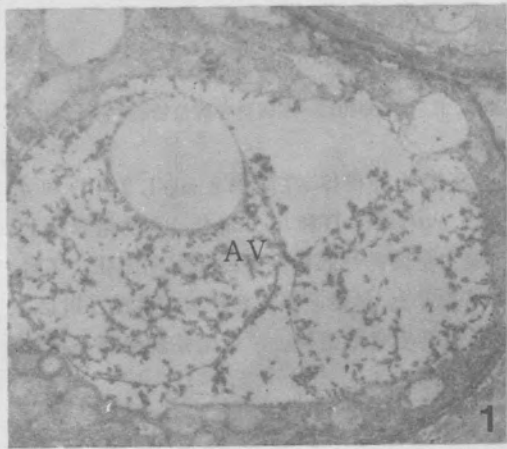
Plate I



See explanation of the end of text

尹增芳等: 图版 II

Yin Zeng-Fang *et al*: Plate II



See explanation of the end of text