

# 中国鹅掌楸雄配子体发育的超微结构研究

尹增芳 樊汝汶

(南京林业大学林学系, 南京 210037)

**摘要** 中国鹅掌楸(*Liriodendron Chinese* (Hesml.) Sarg.)雄配子体发育的超微结构观察结果表明, 中国鹅掌楸雄配子体的发育符合大多数被子植物的发育特征, 表现在: 1. 小孢子核在萌发孔的相对侧靠近小孢子壁处进行有丝分裂, 分裂末期形成细胞板, 而后进一步发育形成分隔营养细胞和生殖细胞的纤维素的壁。2. 胞质分裂极不均等, 营养细胞与生殖细胞大小悬殊, 而且生殖细胞内不含质体。3. 生殖细胞在发育过程中发生一系列位移和形态变化, 生殖细胞向营养核移动, 与营养核贴合时, 细胞核内染色质高度凝缩; 与营养核分离后, 生殖细胞纤维素的壁才完全解体消失, 同时质膜凹陷, 细胞呈不规则形态。4. 营养细胞内脂质小泡极性分布, 形成生殖细胞的脂体冠。5. 营养核在与生殖细胞贴合过程中形状由近圆球形变为近弯月形, 但核仁、核膜界限清晰, 染色质始终保持均一状态。对生殖细胞分裂前的位置变化及其与营养细胞间的关系进行了初步的探讨。

**关键词** 中国鹅掌楸; 雄配子体; 超微结构

**Ultrastructure observations on the development of male gametophyte in *Liriodendron Chinese* (Hesml.) Sarg.** Yin Zen-Fang and Fan Ru-Wen (Department of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037), *J. Plant Resour. & Environ.* 1994, 3(1): 1~8

The ultrastructure observations on the features of the development of male gametophyte in *Liriodendron Chinese* was studied in detail. The results were shown as follows: 1. The mitosis of microspore nucleus takes place near the wall at the opposite side of germ spore. The cell plate formed in telophase of the first microsporidic mitosis extended centrifugally until it connected with the intine of the pollen grain. A new wall was then formed to separated the generative and vegetative cells. 2. As the unequal cytokinesis, the generative cell was smaller than the vegetative cell, and it has no plastid. 3. At the process of development, the generative cell occurs a series of displacement and shape changes, and it can move to vegetative nucleus. The chromatin was contracted in the generative nucleus when it pressed close to vegetative nucleus. The generative cell wall didn't disapper completely untill it was separated from vegetative nucleus. At the same time, the plasma membrane occured hollow, and the cell took irregular shape. 4. The unequal distribution of lipid vesicle was very prominent in vegetative cell, which was detached from the intine of pollen grain, it was surrounded by the lipid vesicles called the corona of them. 5. During the development of male gametophyte, the shape of the vegetative nucleus changes similar globular into crescent moon-shaped, but the dividing line of nucleus and nuclear membrane was very clear, and the chromatin kept even state from beginning to end.

**Key words** *Liriodendron Chinese*; male gametophyte; ultrastructure

收稿日期 1993-10-23

· 国家自然科学基金资助课题。

本项工作得到南京林业大学电镜室黄金生副教授和姜力女士的大力协助, 在此表示感谢!

## 前 言

中国鹅掌楸(*Liriodendron Chinese* (Hesml.) Sarg.)属于木兰科(Magnoliaceae)鹅掌楸属,是我国特有的珍稀树种之一,主要分布于我国长江流域以南。由于它保留了许多原始性状,对研究植物的系统发育有着重要的作用,并且它的树形美观,材质优良,能够在二氧化硫污染区生长良好,具有重要的观赏和利用价值,因而逐渐受到人们的重视。木兰科的胚胎学研究已有100多年的历史,但研究工作主要集中在木兰属(*Maqolina*),对鹅掌楸属的研究甚少<sup>[1,2]</sup>。国外学者只是研究了鹅掌楸属的北美鹅掌楸(*Liriodendron tulipifera*)的胚胎发生和种子形成过程,并以其为代表进行属间比较,70年代以来,对北美鹅掌楸的研究更加深入,涉及了许多学科。我国学者对中国鹅掌楸的研究主要在系统分类方面,仅仅通过对花、果实的形态结构的研究,阐明其分类位置、分布中心等,仍然缺乏胚胎学证据。50年代,由于园林绿化和生产实践的需要,南京林业大学叶培忠教授对中国鹅掌楸和北美鹅掌楸进行杂交育种实验,成功地培育出杂交品种,但缺乏系统的胚胎学基础资料。而且,鹅掌楸属的结籽率很低,其中北美鹅掌楸的结籽率不超过10%,南京地区的中国鹅掌楸尚不足1%,大大影响了这一珍贵资源的推广和利用。因此对鹅掌楸属进行系统的胚胎学研究,不仅可以为鹅掌楸属的系统分类位置提供胚胎学证据,而且可望发现结籽率低的胚胎学原因,从而找到提高结籽率的有效措施。中国鹅掌楸的胚胎学研究工作已经取得一定的进展。我们已经报道了其混合芽发生与形态建成的一般规律以及花芽分化和种子发育的基本过程<sup>[2~4]</sup>,初步描述了中国鹅掌楸胚胎学的原始特征,认为花粉是影响结籽率的重要因素之一。本文报道了中国鹅掌楸雄配子体发育过程中生殖细胞的形成及其与营养细胞的关系,为进一步利用和现代植物胚胎学理论的发展提供理论依据和基础材料。

## 材料与方 法

1. 试验材料 材料选自南京林业大学内栽培的树龄33年、生长良好的单株。

2. 试验方法 (1) 采样:1989年3月至4月上旬每隔2天采集花蕾,4月下旬至5月上旬每隔7天采集。1990年重复采样。(2) 样品制作:采用常规的透射电镜及石蜡切片制作法。(3) 细胞化学制样:用LKB-V型切片机半薄切片,切片厚1.2  $\mu\text{m}$ ,用PAS反应染淀粉粒,苏丹黑B染脂滴,或用PAS反应-苏丹黑B双重染色。

## 观 察 结 果

### 1. 营养细胞和生殖细胞的形成

从四分体中游离出来的小孢子其发育过程可以分为收缩期和液泡期两个阶段。收缩期的小孢子圆球形,细胞质稠密,具有丰富的造粉体、脂滴等内含物以及线粒体、内质网等细胞器,内含物及细胞器在细胞中均匀分布,细胞核位于中心部位,核膜常内陷,因此核的形状

极不规则,细胞中小泡的数量极少,几乎观察不到(图版 I 1),液泡期的小孢子内含大量小液泡,许多小液泡尚可合并成大液泡,细胞质多被挤到壁的四周,细胞核移到萌发孔的相对一侧(图版 I 2),细胞质组成与收缩期基本一致,但分布呈极极性状态,在核的周围分布大量造粉体、线粒体、内质网,并随核的向壁移动而移动(图版 I 3)。最后,小孢子核紧贴花粉壁(图版 I 4)。小孢子核在靠近细胞壁的位置进行有丝分裂,当分裂进入后期-末期时,两个子核间出现成膜体(图版 I 5),经离心的扩展后形成一个与内壁连接的细胞板,同时逐渐沉积电子密度较高的物质形成分隔营养细胞和生殖细胞的壁(图版 I 6),构成壁的物质与花粉内壁的电子密度一致,因而我们推测其为纤维素类(图版 II 1),分裂后形成的生殖细胞核体积较小,核内染色质凝集程度较高,无核仁液泡;而营养核的体积较大,具核仁液泡(图版 II 2)。并且细胞质的分布极不均等,其中营养细胞包含原来小孢子的大液泡和大部分细胞质及细胞器,而生殖细胞仅包含极少部分,但细胞质相对稠密,核质比相对较大,无造粉体(图版 II 3)。

## 2. 生殖细胞的早期行为

早期的生殖细胞为凸透镜形,紧贴着花粉壁(图版 I 6),随着生殖细胞的发育,其体积稍变大,生殖细胞与营养细胞间的壁物质逐渐降解,细胞壁由厚变薄,在营养细胞质膜(降解壁的部位)附近内质网的数量增多,常可见到同心环状内质网(图版 II 5)。后来,生殖细胞变为向心突出呈半球状(图版 II 6),最后生殖细胞完全脱离花粉壁,形态变为近圆球形,游离在营养细胞中(图版 II 2),这时生殖细胞周围分布大量脂质小泡,其壁尚未完全消失,并且细胞壁及细胞膜发生不同程度的内折,细胞形状不规则,同时慢慢地向营养核靠近,最后与营养核紧紧地贴合在一起(图版 III 1)。此时,细胞核内已出现凝聚的染色质丝,同营养核分离后,细胞壁完全降解,围绕生殖细胞的脂质小泡消失,此时生殖细胞为由营养细胞质膜包围的裸细胞,而且细胞质膜的内陷程度更大,染色质丝凝缩成为染色体,这时核膜依然存在,细胞质内出现大量的小泡,紧紧围绕在核区周围,形成纺锤体区,这种状况存在于大多数二细胞花粉中(图版 III 2,3)。另外,我们也观察到极少数花粉中的生殖细胞在核膜、核仁消失后细胞膜高度内陷呈缢裂的趋势(图版 III 4)。

## 3. 营养细胞

在雄配子体发育过程中,营养细胞具有如下特点:1. 细胞内液泡较大,细胞质相对稀薄(图版 II 3)。2. 含大量的造粉体,淀粉成团聚集(图版 II 2)。3. 脂质小泡极性分布,在生殖细胞刚形成时,脂质小泡连续紧密地沿营养细胞的质膜与生殖细胞壁的交界处排列,形成断续分布的脂带,当生殖细胞游离在营养细胞中时,脂质小泡形成一个包围圈,构成“脂体冠”的结构,至生殖细胞与营养细胞贴合时,“脂体冠”开始解体,后来脂质小泡均匀地分布在营养细胞质中(图版 II 4, III 1)。4. 早期的营养核近圆球形,与生殖细胞贴合时形态近似弯月形,环抱着生殖核,至生殖细胞与营养细胞分离后,营养核逐渐恢复原状,在此过程中,核膜、核仁始终很清晰,染色质也保持均一状态(图版 II 2, III 1)。

## 结论与讨论

### 1. 生殖细胞的早期行为

生殖细胞可以分裂、分化形成精子,因此生殖细胞的早期行为对精子的形成具有重要的

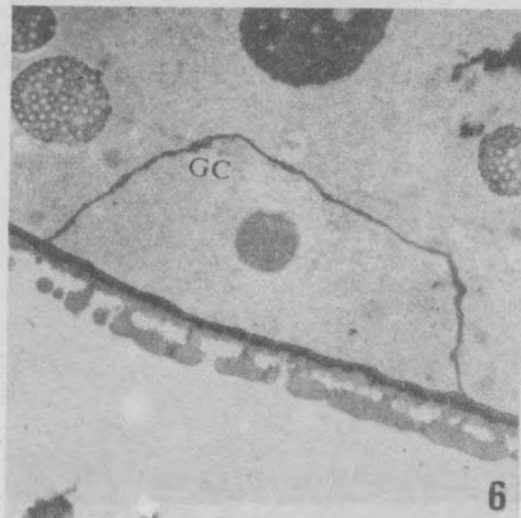
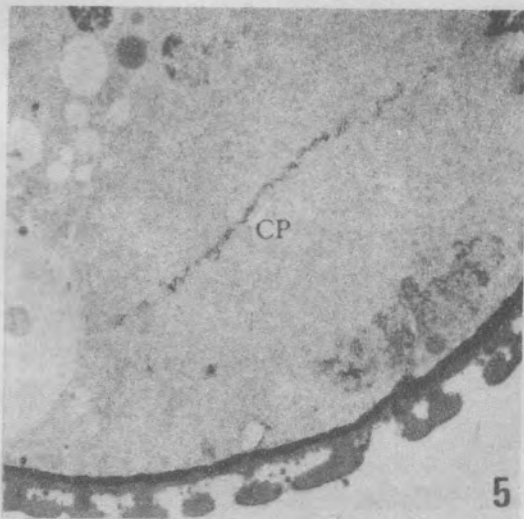
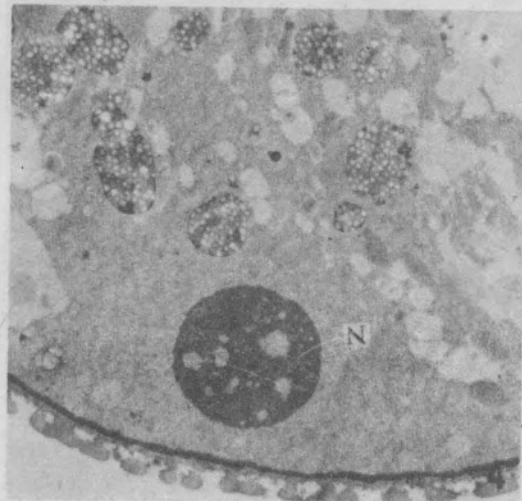
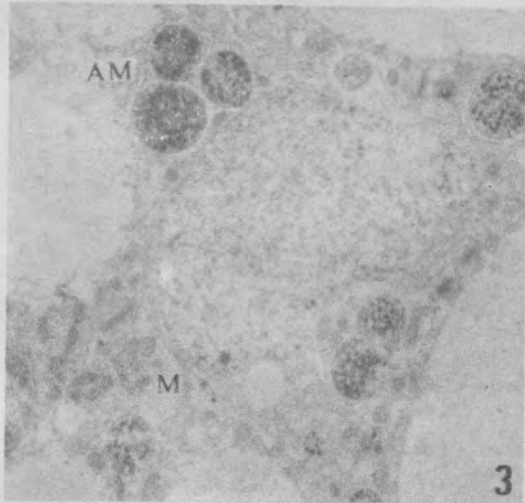
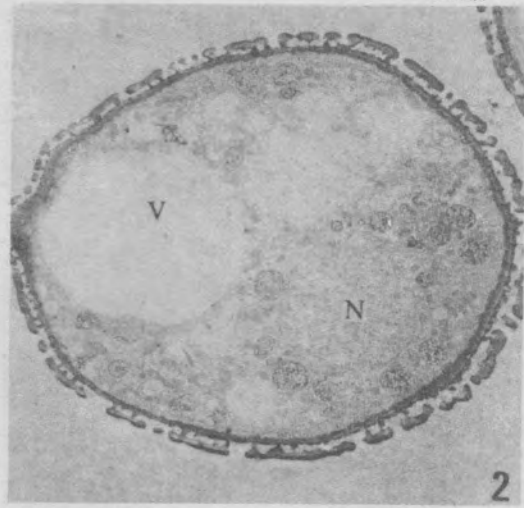
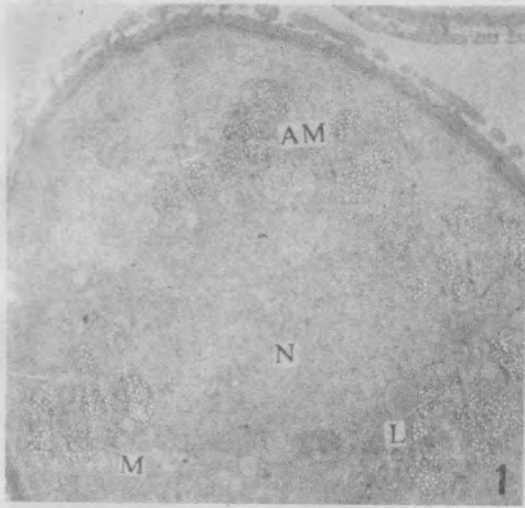
作用。生殖细胞的一个显著特点是由具壁的细胞变为裸细胞,关于生殖细胞壁的性质,一般认为是胼胝质、纤维素或果胶纤维素的<sup>[5-7]</sup>,我们观察发现,生殖细胞与营养细胞的分隔壁具有许多纤丝状的结构,其电子密度与花粉内壁相同,因此我们推测纤维素可能是壁的主要成分。虽然此壁存在的时间很短暂,但对生殖细胞的发育途径可能有重要意义。Carr总结了植物细胞分化的许多实验结果,说明细胞在生理上的孤立化是细胞改变分化方向的必要条件<sup>[10]</sup>。生殖细胞在一个时期被暂时的壁所封闭,可能是生殖细胞改变分化方向的一个必要前提。

## 2. 生殖细胞与营养细胞的关系

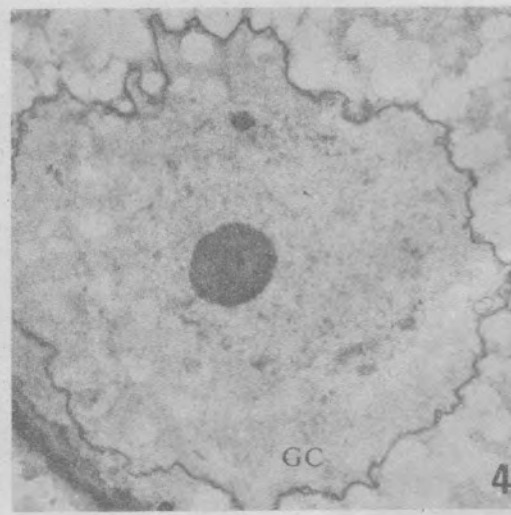
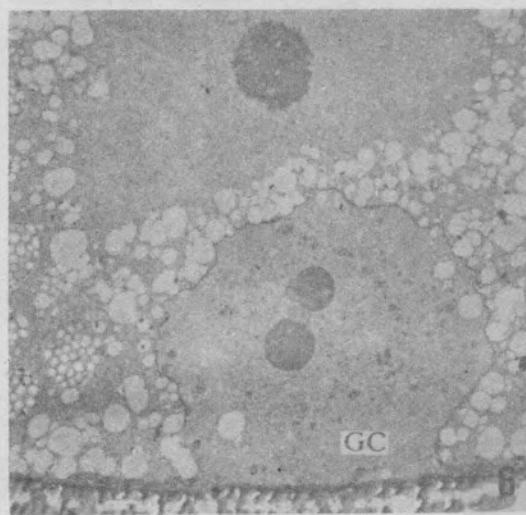
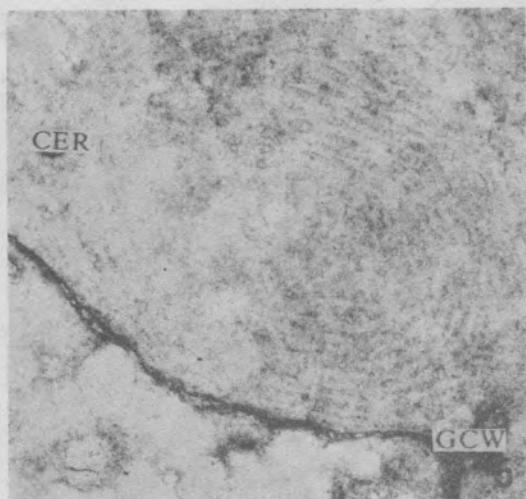
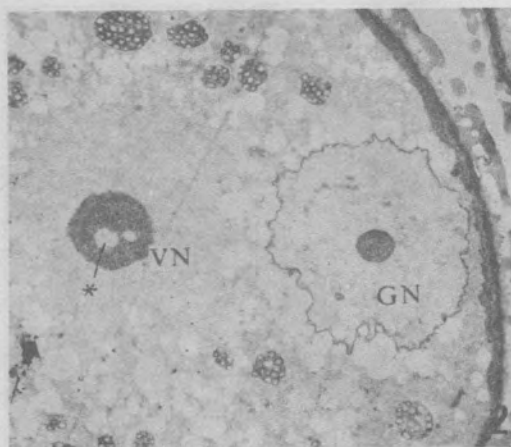
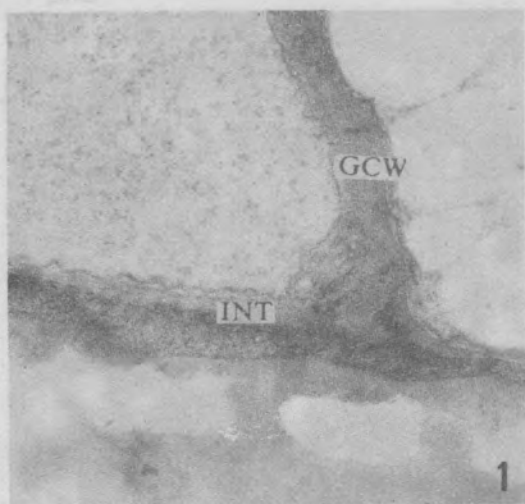
生殖细胞与营养细胞间既存在着异质性又存在相关性。异质性主要体现在体积差异及组成成分的差异,生殖细胞与营养细胞体积相差很大,相应地其细胞质及细胞器的数量较少,但其相对密度较高,因而能够维持生殖细胞较高的代谢水平;而且细胞的组成成分相差也较大,特别是生殖细胞中无质体,而营养细胞内却含大量质体。从目前报道的资料来看,大多数被研究过植物的生殖细胞是缺乏质体的<sup>[5,6]</sup>,在小麦(*Triticum aestivum*)中,生殖细胞的质体是随着细胞的成熟而退化的<sup>[7]</sup>。有关资料表明了生殖细胞的质体与遗传物质间存在相关性。因此,生殖细胞内是否存在质体成为人们关注的问题。Hageman根据细胞学分析来确定质体的有无,将被子植物分为番茄型、茄型、小麦型、天竺葵型四大类型<sup>[12]</sup>。中国鹅掌楸的生殖细胞属于番茄型,主要是因为小孢子第一次分裂时是在单核靠边时进行,细胞质进行不等分裂,所以形成的营养细胞总比生殖细胞大得多,生殖细胞内不含质体。

生殖细胞与营养细胞的相关性主要体现在两个方面:(1)营养核与生殖细胞间有规律的位移。Oryol曾用生活材料研究玉米花粉的发育,指出小孢子核从中央移至花粉内侧的严格方向性,以及营养核和生殖细胞先后从花粉内侧运动至外侧固定不变的路线与花粉的极性轴一致,并与小孢子的原生质中存在某些梯度有关<sup>[13]</sup>。中国鹅掌楸与其基本相似,在小孢子移动的过程中,细胞质及细胞器偏边分布,液泡移至相对侧,尤以造粉体的极性分布最为明显。超微结构还表明,生殖细胞及营养核在移动中形态结构发生很大变化,生殖细胞从椭球形变为近圆球形,最终变为裂瓣状,而营养核则由近圆球形变为近弯月形,并以很大的表面与生殖细胞贴近,胡适宜等<sup>[7]</sup>认为这种状态可能显示二者之间存在物质交换的关系,我们同意这一观点,可以说,形态结构的变化往往是生理生化变化的具体体现,生殖细胞与营养核形态结构变化方式,使二者达到更高层次的调和,更好地适应其内部的生理生化变化。当生殖细胞游离后,营养核重新恢复原状,而生殖细胞继续分裂分化,因此我们推断营养核与生殖细胞的分裂是极其相关的。(2)生殖细胞游离在营养细胞中时为大量的脂质小泡所包围。脂质小泡沿着两层质膜紧密排列,形成生殖细胞的包围圈,其形成情况与知母相似<sup>[8]</sup>。电镜观察结果表明:1)脂质小泡附着于营养细胞质膜内表面形成生殖细胞的脂体冠。2)当生殖细胞与营养细胞贴合后脂体冠逐渐降解消失。有关脂体冠的生理功能尚未见报道,综合上述观察结果,我们认为脂体冠可能与生殖细胞的位移或形状改变有关,也可能与生殖细胞细胞壁的降解或从营养细胞中汲取营养物质有关。

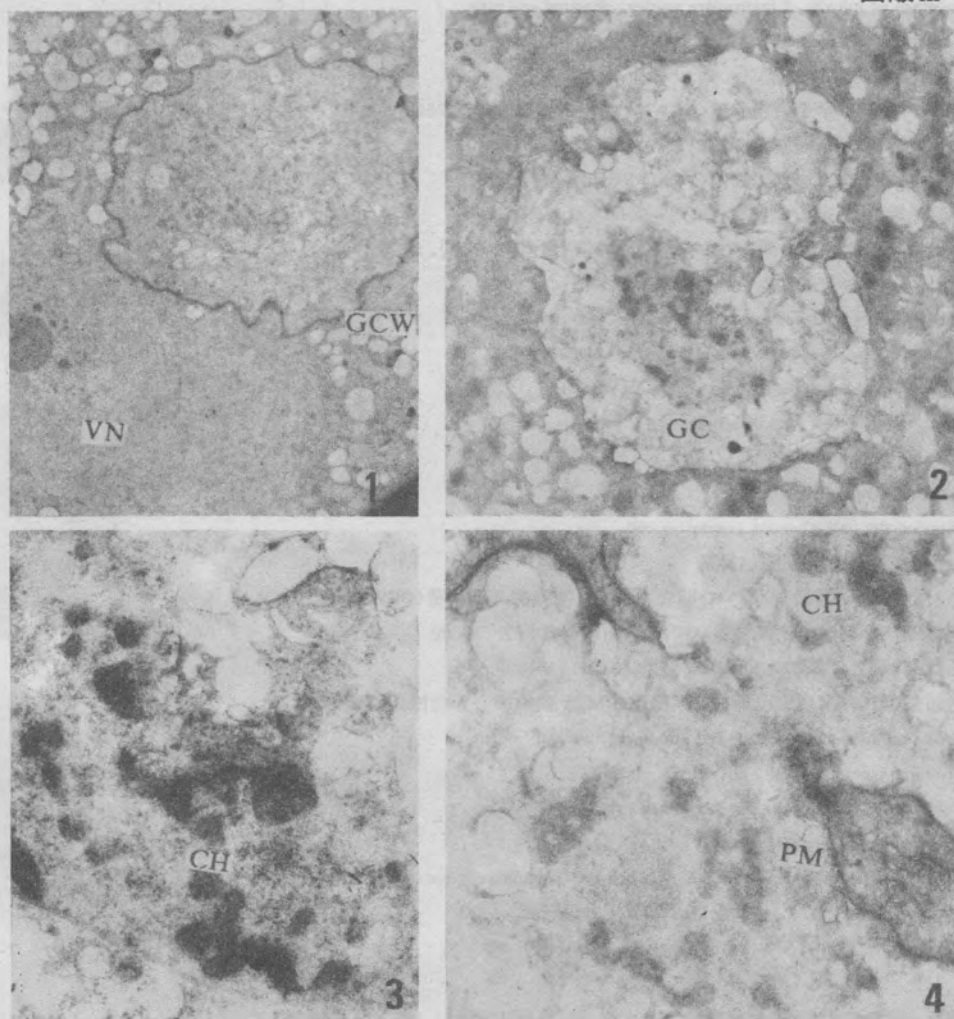
图版 I



图版 II



图版 III



图版说明 Explanation of plates

## 图版 I 小孢子核的有丝分裂

1. 收缩期的小孢子, 示核(N)、造粉体(AM)、脂滴(L)和线粒体(M)。×200
2. 液泡期的小孢子, 示核(N)及大的液泡(V)。×150
3. 液泡期的小孢子核, 示其周围分布的造粉体(AM)和线粒体(M)。×500
4. 示紧贴花粉壁的小孢子核(N)。×3000
5. 小孢子核有丝分裂末期, 示核间形成的细胞板(CP)。×400
6. 示刚刚形成的生殖细胞(GC)。×3500

## Plate I The mitosis of microspore nucleus

1. The stage of contract of microspore, showing nucleus, amyloplast, lipid and mitochondria.
2. The stage of vacuole of microspore, showing nucleus and vacuole.
3. The stage of vacuole of microspore nucleus.
4. The microspore nucleus closes to pollen grain wall.

5. The stage of mitosis of microspore nucleu, showing cell plate.
6. Showing generative cell.

#### 图版 I 生殖细胞的发育过程

1. 图版 I 6放大, 示生殖细胞壁(GCW)及花粉内壁(INT)。×2500
2. 示生殖细胞核(GN)与营养核(VN)。×2500
3. 示生殖细胞(GC)与营养细胞(VC)。×1500
4. 图版 I 3放大, 示生殖细胞(GC)。×6000
5. 示正在降解的生殖细胞壁(GCW)外侧的环状内质网(CER)。×1500
6. 示向内突出的半球状生殖细胞(GC)。×300

#### Plate I The process of development of generative cell

1. Showing generative cell wall and intine of pollen grain.
2. Showing generative nucleu and vegetative nucleu.
3. The generative cell wall disappeared.
4. Showing generative cell.
5. Showing myeline figure.
6. Showing the half-globular generative cell.

#### 图版 II 生殖细胞与营养细胞的关系

1. 生殖细胞(GC)与营养核(VN)贴合, 示生殖细胞的纤维素壁(GCW)。×400
2. 同营养核分离后的生殖细胞(GC), 示细胞壁已消失。×500
3. 图版 II 2放大, 示染色质凝聚成染色体(CH)。×1500
4. 生殖细胞核内出现染色体时, 细胞膜(CM)于核的中心部位凹陷缢裂。×1200

#### Plate II The relation of generative cell and vegetative cell

1. Showing generative cell wall.
2. The generative cell wall has disappeared.
3. The chromatine is contracted.
4. The plasma membrane occure hollow when the chromatine is contracted.

### 参 考 文 献

- 1 尹增芳, 樊汝汶. 1993; 南京林业大学学报 17(1): 91~96.
- 2 樊汝汶, 尹增芳, 尤录祥等. 1992; 林业科学 28(1): 65~69.
- 3 樊汝汶, 尹增芳, 尤录祥. 1990; 南京林业大学学报 14(2): 26~32.
- 4 樊汝汶, 尹增芳. 1992; 南京林业大学学报 16(2): 31~36.
- 5 胡适宜. 1983; 被子植物胚胎学, 人民教育出版社, 北京.
- 6 Maheshwari 著, 陈 机译. 1960; 被子植物胚胎学引论, 上海科技出版社, 上海.
- 7 胡适宜等. 1979; 植物学报 21: 208~214.
- 8 陈祖铿, 周 馥, 王伏雄等. 1988; 植物学报 30(6): 569~573.
- 9 樊汝汶, 叶建国, 尹增芳等. 1992; 植物学报 34(6): 437~442.
- 10 Carr D J. 1976; Plasmodesmata in growth and development In: B E S Gunning and A W Robards (eds), "Intercellular Communication in Plants; Studies on plasmodesmata" Springer Berlin, P. 243~283.
- 11 Canright J E. 1952; Amer. J. Bot. 39: 484~497.
- 12 Hagemann R. 1983; The formation of generative and the underlying mechanisms. Fertil. Embryogen. Ovulated Plants VEDA. Bratislava. pp. 97~99.
- 13 Oryol L I. 1969; Rrv. Cytol. et Biol. Veg., 32: 37~42.