

青葙花药发育的结构和组织化学观察

郭娇娇, 郭笑娟, 宋铁蛋, 田惠桥

(厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361102)

摘要: 对苋科植物青葙 *Celosia argentea* 花药发育的结构和组织化学(多糖和脂滴)特征进行观察。青葙小孢子发生为同时型,四分体为四面体型。药壁为典型四层,绒毡层属于同型绒毡层。成熟花粉为二胞型。早期花药中的淀粉粒和脂滴均较少,绒毡层细胞至小孢子晚期退化为体积较大的脂块。二胞花粉时期的中层细胞退化为脂滴。早期二胞花粉中先出现多糖颗粒,晚期的成熟花粉中积累大量淀粉粒和较少的脂滴为营养储存物。

关键词: 青葙; 花药发育; 形态学; 多糖; 脂类

Doi: 10.3969/j.issn.1009-7791.2014.02.006

中图分类号: Q944.6

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2014)02-0114-05

Structural and Histochemical Observation on the Anthers of *Celosia argentea*

GUO Jiao-jiao, GUO Xiao-juan, SONG Tie-dan, TIAN Hui-qiao

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, Fujian China)

Abstract: Structural and histochemical observations on the developing anthers of *Celosia argentea* L. (Amaranthaceae) were conducted. Its microsporogenesis is simultaneous and microspore tetrad is tetrahedral. Its anther wall consists of four typical layers of cells and tapetum is homotypical. Its mature pollen contains a small generative cell and a vegetative cell, belonging to bicellular. In young anthers starches and lipids were few. At late microspore stage, degenerating tapetal cells transformed into large lipids, and at early bicellular pollen stage, middle layer cell also transformed into lipids. In early bicellular pollen polysaccharose appeared first, and then lipids. Mature pollen of *C. argentea* accumulated numerous starches and fewer lipids as storage material.

Key words: anther; *Celosia argentea* L.; lipid; polysaccharide; structure

被子植物花药结构复杂,花药壁由四层细胞即表皮、药室内壁、中层和绒毡层组成,分别行使不同的功能,维持花药的结构以及花粉的正常发育。药室中的花粉发育也伴随着一系列的细胞形态及生理功能等方面的变化。花药发育的一个明显特征表现在其吸收、积累营养物质上,在成熟花粉中积累大量营养物质供花粉萌发时利用。伴随着花药的发育,组成花药的细胞形态和结构发生明显变化。花药发育中所积累的营养物质也应植物种类有所差异,不同植物花粉积累营养物质的规律也不尽相同。被子植物在花粉成熟过程中所积累的营养物质主要是淀粉和脂类,且淀粉和脂类在一定时期可以相互转化^[1]。但目前对不同植物花药中的营养物质转运和转化规律还不清楚,需进行更广泛的探索。

青葙 *Celosia argentea* 是苋科 *Amaranthaceae* 青葙属一年生草本植物,其种子称青葙子,也称草决明。研究显示,青葙的硝酸盐含量较低, V_C 含量较丰富,为一种品质较好的野菜^[2]。从青葙分离出来的类黄酮物质具有抗炎活性^[3]。在中药应用中,青葙子具有保肝^[4]、抗肿瘤^[5]、抗糖尿病^[6]等作用。目前,对青葙甚至其所在科属中其他植物的有性生殖研究鲜有报道。本文对青葙花药发育中的结构变化特点

收稿日期: 2013-10-25

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

作者简介: 郭娇娇, 本科生, 从事植物发育生物学研究。E-mail: 472422782@qq.com

注: 田惠桥为通讯作者。E-mail: hqtian@xmu.edu.cn

和营养物质运输和转化特征进行观察, 研究其花药发育的结构变化特征和物质代谢规律。

1 材料与方法

青葙 *Celosia argentea* 花药采自厦门大学翔安校区校园内。分别取不同发育时期的花药, 迅速置于 3% 戊二醛 (磷酸缓冲液, pH 7.8) 前固定液中, 室温下固定 3 h。用相同缓冲液换洗 3 次, 每次 30 min。再将材料转入 1% 锇酸后固定液中, 在 4 °C 下固定过夜。次日用相同的洗涤液换洗 3 次, 每次 30 min。经梯度系列丙酮脱水, Spurr 树脂包埋。用 Leica Ultracut R 型超薄切片机切片, 切片厚度 1 μm。参照胡适宜等^[7]方法, 不同时期的花药切片用高碘酸-希夫反应 (Periodic Acid-Schiff stain, PAS) 标记花药细胞中的多糖类物质, 呈现红色; 再用苏丹黑 B 复染细胞中的中性脂类物质, 呈现黑色。用 Leica DMR 显微镜观察拍照。

2 结果与分析

2.1 花药的形态变化

2.1.1 减数分裂前 青葙花药壁在造孢细胞时期已分化出四层药壁细胞 (图 1: A), 由外向内依次为表皮、药室内壁、中层和绒毡层。表皮细胞、药室内壁细胞和中层细胞高度液泡化, 绒毡层细胞中出现小液泡。在药隔部位和药壁部位的绒毡层细胞大小和形态基本无异, 属同型绒毡层。花药中央的造孢细胞紧密排列成团状, 细胞内也有小液泡出现。

随着花药进一步发育, 中层细胞径向缩短, 切向增加, 细胞呈薄片状。而绒毡层细胞则径向明显伸长, 向药室内延伸, 使其厚度明显增加。与此同时, 绒毡层细胞质与液泡的比例升高。花粉细胞周围出现胼胝质壁, 厚度不均匀, 在细胞角隅处较厚, 角隅之间的部位较薄 (图 1: B)。较厚胼胝质壁的形成是小孢子母细胞的明显特征之一, 此时花药发育到小孢子母细胞时期。

2.1.2 小孢子时期 青葙小孢子母细胞经减数分裂 I 完成后并不发生胞质分裂, 子核间没有细胞壁的形成, 不形成二分体。在减数分裂 II 的核分裂完成后, 4 个核之间的细胞表面向心地形成细胞壁 (图 1: C), 将 4 个细胞核分隔为 4 个小孢子, 同时形成四分体。青葙小孢子母细胞的减数分裂过程为同时型。在四分体时期, 花药的表皮和药室内壁无明显变化; 中层细胞高度液泡化, 绒毡层细胞开始变形。药室中的四分体由较厚的胼胝质壁包裹, 使四分体分离, 也使 4 个小孢子彼此隔离 (图 1: D)。

四分体胼胝质壁溶解后, 释放出四个游离小孢子。早期游离小孢子的特征是细胞核位于中央, 细胞中没有大液泡 (单核中位)。此时, 在小孢子外表形成了较厚的花粉外壁, 其原覆盖层和原基粒棒层清晰。花药表皮和药室内壁的细胞仍高度液泡化, 中层细胞为片层状, 绒毡层细胞进一步退化, 细胞质内含物减少 (图 1: E)。

随着小孢子发育, 其细胞质中形成一大液泡, 将细胞核和细胞质挤到花粉周缘区 (单核靠边), 为小孢子晚期。此时, 花药壁表皮和药室内壁细胞明显增大, 尤其药室内壁细胞增厚 2~4 倍。绒毡层细胞已完全解体退化为残迹。中层细胞也已退化, 细胞内含物转化为富含脂质成分的凝聚物 (图 1: F)。

2.1.3 二胞花粉时期 小孢子经过一次有丝分裂形成二胞花粉。由于小孢子中的大液泡使其具有极性, 小孢子的切向分裂形成两个大小不等的子细胞: 体积较小的生殖细胞紧贴花粉壁, 外形呈透镜状。体积较大的营养细胞则继承了原小孢子的大部分内含物, 包括大液泡。以后, 生殖细胞脱离花粉壁移入到营养细胞中。二胞花粉形成后, 原小孢子中的大液泡分解、消失, 细胞质内含物增加, 并开始积累营养物质。此时, 花药壁细胞也有进一步变化, 只剩表皮和药室内壁细胞两层细胞构成花药壁。在表皮细胞的表面形成了一些凸起物。药室内壁细胞中出现了典型的径向纤维状加厚壁。中层细胞已完全降解, 仅留下一薄层残留物 (图 1: G)。这时, 花药同一侧两药室间的药隔组织退化、消失, 连通两个药室为一个长型药室。

在开花前一天, 接近成熟的花药中, 花粉体积进一步增大, 细胞内积累的营养物质增多。花药壁仍由表皮和药室内壁两层细胞组成, 但细胞体积有所增加 (图 1: H)。

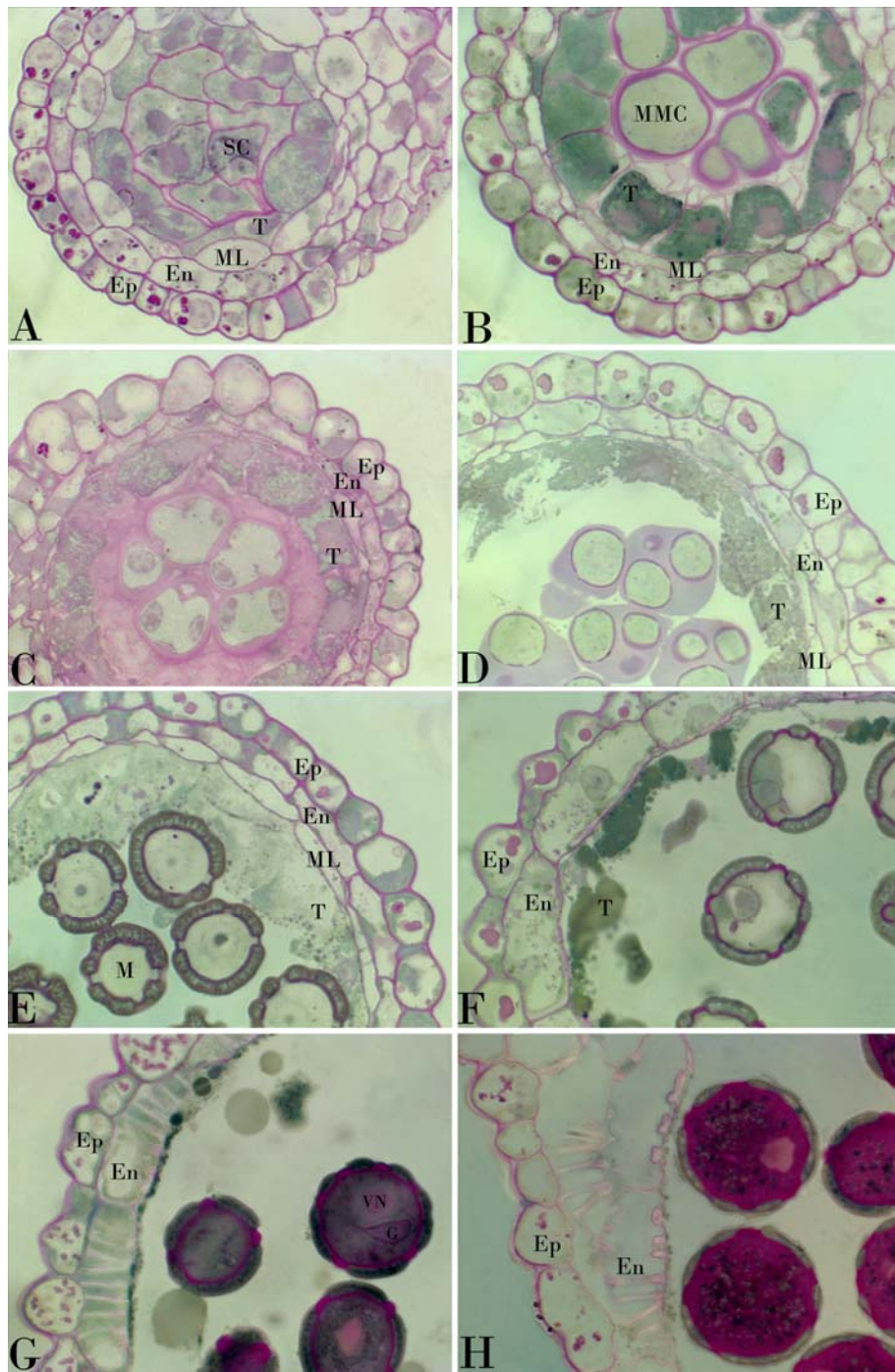


图 1 青葙花药发育过程中的形态结构和组织化学特征

Fig.1 Structural and histochemical characteristics of the developing anthers from *Celosia argentea*

- A. 造孢细胞时期的花药横切，花药表皮 (Ep) 细胞中有淀粉粒积累。En: 药室内壁; T: 绒毡层; ML: 中层; SC: 造孢细胞。(×400)
- B. 小孢子母细胞时期花药的横切面，小孢子母细胞 (MMC) 被多糖性质的胼胝质壁包裹。绒毡层 (T) 细胞径向伸长，向药室内延伸，细胞中出现少量脂滴，但其细胞核含有多糖。中层 (ML) 细胞径向缩短，呈狭长状。(×400)
- C. 小孢子母细胞减数分裂时期，花药中糖类物质增加，尤其是药室腔中，小孢子母细胞之间出现明显的糖类物质。(×400)
- D. 减数分裂后，包裹四分体的多糖胼胝质加厚，绒毡层细胞开始变形。(×400)
- E. 早期游离小孢子的核位于细胞中部，细胞质中没有明显液泡。花粉外壁已形成，由脂性的基粒棒和覆盖层组成，在外壁之内是一层多糖花粉内壁。(×400)
- F. 随着小孢子中大液泡的形成，细胞核被挤至细胞边缘，小孢子发育到晚期 (单核靠边期)。退化绒毡层的细胞内含物转变为大脂块。(×400)
- G. 二胞花粉早期，营养细胞的大液泡分解、消失。随着花粉内含物的积累，营养细胞核 (VN) 和生殖细胞 (G) 都迁移到细胞中央。在营养细胞中开始积累淀粉粒。此时，中层细胞已退化，细胞内含物转变为脂滴。(×400)
- H. 开花时，成熟花粉中积累大量淀粉粒和少量脂滴。(×400)

2.2 花药发育中的多糖分布特征

细胞中的多糖物质经 PAS 反应后, 呈红色, 淀粉粒为红色颗粒。在造孢细胞时期, 花药细胞壁被染成红色, 使细胞间的界限清晰。在表皮细胞中积累了一些淀粉粒。药室内壁细胞中也有少量淀粉粒分布。另外花药细胞的细胞核也被染成浅红色, 表明细胞核中也有较多的多糖物质(图 1: A)。花药发育至小孢子母细胞时, 花药表皮细胞中的淀粉粒明显减少。小孢子母细胞被厚厚的胼胝质壁包裹。绒毡层细胞的细胞核依然呈现浅红色, 含有一定的多糖物质(图 1: B)。在小孢子母细胞减数分裂过程中, 花药中淀粉粒基本消失, 但在药室腔中则呈现明显红色, 显示有较多的多糖类物质。绒毡层细胞中的非淀粉粒多糖也较多(图 1: C)。减数分裂后, 除四分体胼胝质壁仍呈红色外, 花药其他部位的多糖物质明显减少(图 1: D)。在小孢子发育过程中, 花药中淀粉粒多糖一直较少, 非淀粉粒多糖物质也不多, 主要分布在药壁的细胞壁以及后来形成的花粉内壁部位。期间表皮细胞的细胞核一直染为红色, 但紧邻的药室内壁的细胞核则没有呈现多糖反应(图 1: E, F)。小孢子分裂形成二胞花粉后, 先在营养细胞中出现糖类物质。随着营养细胞的大液泡消失, 其细胞质中糖类物质明显增加, 并出现淀粉粒。移入到营养细胞中的生殖细胞被一层多糖性质的物质包裹。在表皮细胞中又出现淀粉粒(图 1: G)。接近开花时, 成熟二胞花粉内积累大量淀粉粒。表皮细胞中淀粉粒未消失(图 1: H)。

2.3 脂滴分布特征

苏丹黑可与细胞中的脂类物质结合显现黑色。在青箱花药发育的早期(从造孢细胞时期到小孢子早期), 花药中脂类物质较少(图 1: A-E)。到小孢子后期(单核靠边期), 退化绒毡层细胞内含物转变为大脂块, 而花药中的其他细胞中仍无脂类积累(图 1: F)。花药发育到二胞花粉时期, 退化的中层细胞内含物也转变为大脂滴, 紧贴药室内壁细胞分布。同时二胞花粉粒内部也开始出现脂类物质(图 1: G)。开花时, 成熟花粉中除了聚集大量的淀粉粒外, 也有脂滴分布, 但数量和体积较淀粉粒小。成熟花药的药壁表皮细胞和药室内壁细胞中依然没有脂类物质(图 1: H)。

3 讨论

3.1 青箱花药发育的结构变化

被子植物花药的药壁是花粉外面的体细胞保护组织, 通常由表皮、药室内壁、中层和绒毡层组成。在不同植物中, 花药壁细胞的组成有所不同, 一般表皮和绒毡层均为一层细胞, 但也有两层中层细胞的记录^[1]。花药壁体细胞随着花粉的发育也发生显著的形态、结构变化。表皮细胞的表面常形成很厚的覆盖层, 药室内壁细胞则发生径向壁加厚。中层和绒毡层细胞在花药发育中途退化。开花时, 花药只有表皮和药室内壁两层细胞。双子叶植物, 如白菜^[8], 一般在小孢子早期绒毡层细胞退化; 而单子叶禾本科的水稻^[9]和小麦^[10]是在小孢子晚期开始退化。青箱花药发育的结构变化特征尚未见报道。本研究显示, 青箱在减数分裂过程中不形成二分体结构, 属同时型发育方式; 四分体小孢子的排列为等四面体型。开花时, 青箱成熟花粉中只看到一个生殖细胞, 其花粉可能为二胞花粉。青箱花药壁的绒毡层细胞在四分体时期开始退化, 到小孢子晚期, 绒毡层细胞彻底退化。至二胞花粉时期, 中层细胞也完全退化。成熟花药的药壁只由表皮和药室内壁两层细胞组成。青箱花药发育中的组织结构变化特征与大多数被子植物相似。

3.2 青箱花药发育中多糖和脂滴组织化学观察

被子植物花粉发育的一个明显特征是积累营养物质的“池”, 在成熟花粉中存储大量的营养物质供花粉萌发时利用。通常花粉中积累的营养物质为淀粉或脂滴, 或淀粉和脂滴同时积累。在花药的发育中, 有关营养物质的运输和转化也是花药发育的重要环节。白菜^[9]和水鬼蕉^[11]的花药发育中, 除小孢子母细胞和四分体胼胝质壁呈现多糖外, 花药中没有多糖物质的积累过程, 成熟花粉中仅积累了大量脂滴作为储存物; 小麦^[10]、芒果^[12]和鹅掌楸^[13]的花药发育中, 没有脂类物质积累过程, 成熟花粉中仅积累了大量的淀粉粒作为储存物; 而枸杞^[14]、五爪金龙^[15]和凤仙花^[16]的成熟花粉中则积累了大量的淀粉粒和脂滴作为储存物。对于成熟花粉中既积累淀粉粒又积累脂滴的花粉类型, 有些是二胞花粉中先

积累淀粉,后出现脂滴,如五爪金龙^[15]和凤仙花^[16];有些是二胞花粉中先出现脂滴后出现淀粉多糖,如枸杞^[14]。表明在这类花粉中,营养物质还有一个转化的过程。在本实验中,青葙花药发育过程中的多糖和脂类物质积累具有一定的时空规律。在二胞花粉以前,花药中的营养物质积累不明显;直到二胞花粉时期,营养细胞开始积累营养物质,在花粉中先出现的是染成红色的多糖物质,然后才出现染成黑色的脂滴;到开花时,成熟花粉中积累了较多的多糖物质和较少的脂滴。青葙花粉积累营养物质过程具有一定的规律性。

在花药发育中,药壁细胞不仅对花粉有保护作用,也具有转运营养物质的功能。体内运输到花药的营养物质是糖类,通过药壁细胞的转运输送到药室中供花粉吸收。在淀粉类花粉中,药壁细胞直接将糖类转运到药室中,被花粉吸收,以淀粉形式储存在成熟花粉中,如芒果^[12]、小麦^[10]。在这些植物中,绒毡层细胞既没有淀粉粒,也没有脂滴积累,暗示绒毡层细胞直接将糖类物质转运到花粉中。对于含脂滴的花粉,通常退化的绒毡层细胞将细胞质内含物转化为脂类物质供花粉吸收,如白菜绒毡层^[8]。本实验中,青葙花药在小孢子时期绒毡层开始退化,其细胞内含物也逐渐转变为大的脂块供花粉吸收。到二胞花粉时期,中层细胞开始退化,其细胞质内含物也转变为脂类物质继续为花粉提供营养物质。绒毡层细胞退化后转化成营养物质的现象在枸杞^[14]和五爪金龙^[15]中已有发现,这可能也是绒毡层细胞的一个常见特征,显示其在不同时期具有不同的功能。对于花药中的中层细胞功能,则很少报道。青葙中层细胞是在二胞花粉时期开始退化的,其细胞质内含物也转变为脂类物质继续为花粉提供营养,具有补充绒毡层细胞的功能。

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] 邱贺媛,曾宪锋. 广东产苋科 6 种野菜中硝酸盐、亚硝酸盐及 VC 的含量[J]. 食品科学, 2004(11): 250—251.
- [3] Santosh S. Bhujbal, Sohan. S. Chitlange, Anupama. A. Suralkar, Devanand B S, Manohar J P. Anti-inflammatory activity of an isolated flavonoid fraction from *Celosia argentea* Linn[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2008,2(3): 52—54.
- [4]. Hase K, Kadota S, Basnet P, Namba T and Takahashi T. Hepatop rotective effects of traditional medicines. Isolation of the active constituents from seeds of *Celosia argentea* [J]. Phytotherapy Research, 1996,10(5): 387—392.
- [5] Hayakawa Y, Fujii H, Hase K, Ohnishi Y, Sakukawa R, Kadota S, Namba T, Saiki I. Anti-metastatic and immunomodulating properties of the water extract from *Celosia argentea* seeds[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1998,21(11): 1154—1159.
- [6] Vetrichelvan T, Jegadeesan M, Devi B A. Anti-diabetic activity of alcoholic extract of *Celosia argentea* Linn. seeds in rats[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2002,25(4): 526—528.
- [7] 胡适宜,徐丽云. 显示环氧树脂厚切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法[J]. 植物学报, 1990,32(11): 841—846.
- [8] 谢潮添,杨延红,朱学艺,田惠桥. 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, 2004,37(4): 295—302.
- [9] 冯九焕,卢永根,刘向东,徐雪宾. 水稻花粉发育过程及其分期[J]. 中国水稻科学, 2001,15(1): 21—28.
- [10] 李东霄,李淦,冯素伟,茹振钢. 温敏核不育小麦可育和不育花药的细胞化学观察[J]. 作物学报, 2013,39(5): 878—884.
- [11] 包晗,宋玉燕,马燕,田惠桥. 水鬼蕉花药发育中多糖和脂滴组织化学研究[J]. 植物生理学报, 2011,47(6): 565—569.
- [12] 马燕,邓炜,田惠桥. 芒果花药发育的细胞化学研究[J]. 广西植物, 2011,31(3): 338—341.
- [13] 尹增芳,樊汝汶. 中国鹅掌楸小孢子发生的细胞化学研究[J]. 植物学通报, 1998,15(3): 34—37.
- [14] 徐青,王仙琴,田惠桥. 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, 2006,39(2): 103—110.
- [15] Liu R S, Qiu Y L, Wei D M, Liu H H, Zhu X Y, Tian H Q, Teixeira da Silva J A. Distribution of starch and neutral lipids in the developing anthers of *Ipomoea cairica*[J]. Annales Botanici Fennici, 2011,48: 256—262.
- [16] 杨淑娟,魏冬梅,成诚,宋铁蛋,田惠桥. 凤仙花花药发育中多糖和脂滴组织化学研究[J]. 西北植物学报, 2013,33(9): 1786—1791.