

单叶血藤的胚胎学研究 I

——小孢子发生及雄配子体发育

刘文哲, 盛仙永

(西北大学 生命科学学院, 陕西 西安 710069)

摘要:首次报道了大血藤科植物单叶血藤的小孢子发生及雄配子体发育过程。其花药壁发育类型为基本型。周缘细胞经2次平周分裂形成4层细胞, 其中有些细胞仍能进行一次平周分裂, 最后分别发育为纤维状加厚的药室内壁、中层和绒毡层。腺质绒毡层的细胞中可见乌氏体和脂质球状体。小孢子母细胞减数分裂胞质分裂为同时型, 产生正四面体型四分体。成熟花粉为二细胞型。

关键词:大血藤科; 单叶血藤; 胚胎学; 小孢子; 雄配子体

中图分类号:Q944.58 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274X(2003)03-0349-04

大血藤科(Sargentodoxaceae)是我国特有的科之一^[1], 中药红藤即为大血藤(*Sargentodoxa cuneata*)的藤茎^[2]。近年来对大血藤的研究日趋全面深入^[3-16], 但对其有性生殖阶段的研究尚少, 仅见 Nowicke & Skvarla^[12]、夏泉^[13,14]、韦仲新^[15]对大血藤花粉的形态及其超微结构做过详细的报道, 而有关该科植物的胚胎学研究尚属空白。我们以大血藤科植物单叶血藤(*Sargentodoxa simplicifolia*)^[16]为研究材料, 系统地研究了单叶血藤有性生殖过程中大小孢子的发生和雌雄配子体的发育以及胚和胚乳的发育过程, 旨在为大血藤科植物的胚胎学研究积累比较详细的资料, 并为其系统分类及保护生物学提供胚胎学依据。本文先报道小孢子发生及雄配子体发育的研究结果。

1 材料和方法

1.1 研究材料

实验材料单叶血藤(*S. simplicifolia*)采自陕西省宁陕县宁西(单叶血藤模式标本产地)[凭证标本存放于西北大学生物系植物标本室(WNU), 石建孝, 93002]。2002年5月1日开始根据花的发育过程, 定期采集不同发育阶段的花蕾和花。

1.2 方法

花和花蕾经FAA(50%乙醇:冰醋酸:甲醛=89:6:5)固定并保存。

常规石蜡切片:切片厚度6~8 μm, 铁矾-苏木精衬番红染色, 中性树脂封片, Laica DMLB 普通和荧光显微镜观察并摄影。

半薄切片:FAA 固定, 经清洗后饿酸后固定, 系列酒精脱水, 环氧丙烷过度, Epon812 环氧树脂包埋, Reiche Jung 超薄切片机制片, 切片厚度2 μm, 天青-亚甲基蓝或甲苯胺蓝染色, Epon812 封片, Laica DMLB 显微镜观察并摄影。

2 观察结果

单叶血藤具总状花序, 雄花与两性花同株。雄花萼片6, 2轮, 花瓣状, 覆瓦状排列; 花瓣6, 极小, 蜜腺状; 雄蕊6, 离生, 与花瓣对生, 花丝很短, 花药长圆形, 2室, 外向开裂; 退化雌蕊多数至无。两性花具有发育完全的雌蕊, 其余花部与雄花类似。其雄花小孢子的发生和雄配子体的发育过程如下。

2.1 花药壁的发育

单叶血藤的花药具4个小孢子囊, 单侧外向排列(图版I, 1)。刚形成的花药原基结构简单, 外面是一层表皮细胞, 表皮以内是一群分裂活跃的分生细

收稿日期:2002-12-07

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(2000SM14)

作者简介:刘文哲(1964-), 男, 陕西定边人, 西北大学副教授, 博士, 主要从事药用植物的研究和开发。

胞。后来由于花药外向两侧的细胞分裂较快,形成两个裂瓣。每个裂瓣的两侧表皮下分别分化出孢原细胞。随后两侧的孢原细胞各自进行平周分裂,分别形成周缘细胞和初生造孢细胞。周缘细胞再进行一次平周分裂(图版 I, 2)和多次垂周分裂,形成 2 层壁细胞(图版 I, 3)。这两层细胞继续生长,随后各再进行一次平周分裂,形成 4 层壁细胞。这 4 层细胞继续生长,并出现分化:外面 2 层细胞体积增大较慢,呈狭长的长方形或梭形,而里面 2 层,尤其是最内的一层细胞体积迅速增大并径向延长,原生质体浓厚(图版 I, 4)。随着花药壁的进一步发育,这 4 层细胞中的有些细胞还能进行一次平周分裂(图版 I, 5)。最后,起源于最外层的细胞分化为药室内壁;起源于第 2 层的细胞分化为中层;起源于第 3 层的细胞也分化为中层,但随后就被挤压成狭长状,并逐渐解体;起源于第 4 层的细胞最后分化为绒毡层(图版 I, 6~8)。刚形成的绒毡层细胞为单核细胞(图版 I, 6),这些细胞继续生长并进行细胞内核分裂,一般不伴随胞质分裂,很快成为 2 核细胞(图版 I, 7),有些甚至为 3 核细胞(图版 I, 8)。当药室中的细胞尚处于次生造孢细胞后期时,花药壁已经发育完全,从外到内分别为表皮、药室内壁(1 层,少数为两层)、中层(3~4 层,其中内侧 1~2 层较早解体)、绒毡层(1~2 层)。当小孢子母细胞进入减数分裂前期,甚至在小孢子母细胞减数分裂 I 末期时,仍可见绒毡层细胞在进行核分裂(图版 I, 11)。小孢子从四分体分离出来不久,绒毡层细胞的内切向壁上出现乌氏体。在经钨酸后固定的半薄切片上,观察到绒毡层细胞质中有很多脂质球状体,并不断进入到小孢子囊中(图版 I, 16)。随后脂质球状体逐渐融合、增大;乌氏体也逐渐变大、增多,并数个聚集在一起,进入到小孢子囊中;而绒毡层细胞中的原生质体则逐渐解体(图版 I, 17)。小孢子单核靠边期时,绒毡层细胞中只有几个大的脂质球状体和排列在内切向壁和径向壁上的乌氏体,而细胞质和细胞核已经完全解体(图版 I, 18)。小孢子有丝分裂前,绒毡层细胞的细胞壁破裂,乌氏体和脂质球状体全部释放到小孢子囊中,并附着在小孢子壁上。随着小孢子的进一步发育,外侧的中层细胞也逐渐解体。药室内壁细胞则进一步径向延长,在荧光显微镜下可看到其径向壁、内切向壁发生纤维状加厚(图版 I, 24)。表皮细胞的变化和其他种子植物的相似^[17]。花药成熟后,同一裂瓣的两个小孢子囊相通,并于相通处开裂。开裂后的花药壁只剩下纤维状加厚的药室内壁及残留的表皮细胞

(图版 I, 21)。

2.2 小孢子的发生及雄配子体发育

孢原细胞平周分裂,产生周缘细胞和初生造孢细胞。初生造孢细胞进行有丝分裂,产生次生造孢细胞(图版 I, 2~5)。次生造孢细胞再发育成小孢子母细胞,小孢子母细胞原生质浓厚,核大,且核仁多数。随后,小孢子母细胞体积变大,荧光显微镜下可见其质膜和细胞壁间积累胼胝质(图版 I, 22),随后进入减数分裂 I 前期(图版 I, 8)。接着染色体排列在赤道板附近,进入减数分裂 I 中期(图版 I, 9)。不久,染色体在纺锤丝的牵引下向两极移动(图版 I, 10)。在减数分裂 I 末期,在细胞的两极各形成一个细胞核,并可见清晰的核仁,但两细胞核之间不产生细胞壁(图版 I, 11)。随后,细胞进入减数分裂 II。先是两个细胞核的核膜消失,随后核仁也消失,出现染色体,并分别排列在各自的细胞板附近。随后进入减数分裂 II 的后期,可见由其中一个细胞核形成的两组染色体在纺锤丝的牵引下分别向两极移动,而另一个细胞核产生的两组染色体只能看到其中的一组(图版 I, 12)。到减数分裂 II 末期,分别形成 4 个细胞核,在同一切片上只能看到其中的 3 个细胞核(图版 I, 14)。随后在荧光显微镜下可见这 4 个细胞核之间形成胼胝质壁(图版 I, 23),四分体小孢子形成(图版 I, 13)。同一小孢子囊中小孢子母细胞减数分裂通常是同步的,但同一朵雄花中的 6 个雄蕊,甚至是同一个雄蕊中的不同小孢子囊中的小孢子母细胞减数分裂通常是不同步的,之间可能相差 2~4 个时期。刚从四分体中释放出来的小孢子细胞壁较薄,细胞核位于中央,细胞质较浓,无明显液泡(图版 I, 15)。随后,绒毡层细胞分泌脂质球状体到小孢子囊,并附着在小孢子上,花粉外壁随之迅速形成,并可见 3 个萌发沟(图版 I, 16)。随之,乌氏体也进入小孢子囊,大多数为多个聚集在一起,最后附着在小孢子外壁上(图版 I, 17)。接着小孢子细胞质液泡化,并逐渐形成一个大液泡,而细胞核则逐渐从中央移到细胞的一侧(图版 I, 18)。随后单核小孢子进行有丝分裂,形成一大一小的二细胞花粉,大的为营养细胞,而小的凸透镜状的为生殖细胞。刚形成的生殖细胞贴在花粉壁上(图版 I, 19)。随着雄配子体的发育,生殖细胞逐渐脱离花粉壁,进入营养细胞的细胞质中(图版 I, 20),而营养细胞中的大液泡逐渐消失。在花粉散粉之前,生殖细胞不发生有丝分裂,单叶血藤的雄配子体为二细胞型花粉粒。

3 总结与讨论

根据 Davis^[18]对被子植物花药壁发育类型的划分,单叶血藤的花药壁发育属于基本型。起源于第 3 层细胞的 1~2 层中层细胞在随后的花药壁发育过程中逐渐解体,到小孢子母细胞时期,这 1~2 层中层细胞几乎被吸收殆尽。这可能是由于其内侧绒毡层细胞和造孢细胞迅速生长需要大量的物质和能量而被吸收,而起源于第 2 层细胞的 1~2 层中层细胞则保留到雄配子体发育时才逐渐解体。

单叶血藤的绒毡层为腺质绒毡层。单核小孢子从四分体中分离出来后,在半薄切片中可看到其原生质体中有很多嗜饿球状体,显然该球状体的主要成分为脂类物质。关于小孢子发育过程中绒毡层细胞中脂类物质的产生,国内外已有报道,但对其来源、功能观点不一。有的认为绒毡层细胞中的脂类物质是由质体合成^[19,20],也有的认为绒毡层细胞中的脂类物质来源于高尔基体小泡发育形成的圆球体^[21];有的认为这些脂类物质与乌氏体的形成有关^[22~24],也有的认为这些脂类物质直接参与花粉壁的形成^[20,25]。根据我们的观察,脂质球状体进入小孢子囊,随后附着在小孢子上,花粉外壁随之迅速形成。因此,脂质球状体与花粉壁的形成有关。

小孢子母细胞减数分裂 I 末期时,两个细胞核之间不形成细胞壁;到减数分裂 II 末期,4 个细胞核之间产生胼胝质壁,形成四分体小孢子,所以减数分裂胞质分裂为同时型。在四分体形成过程中,靠近花药壁的四分体往往发生变形,而中间的四分体发育正常,这可能是由于在四分体发育过程中,营养优先提供给中间的四分体,而外层的四分体由于营养不足而败育。最后形成的四分体小孢子为正四面体型。成熟雄配子体为二细胞型花粉粒。

木通科 (Lardizabalaceae) 和大血藤科 (Sargentodoxaceae) 是两个在外部形态,地理分布上非常接近的近缘科,不少学者从不同角度研究了两科之间的关系,多数学者支持将其独立为科^[1,3~5,12~16]。单叶血藤的小孢子发生和雄配子体发育过程中的胚胎学特征与木通科比较,既有相似之处,也有其原始特征。其花药壁发育为基本型,小孢子母细胞减数分裂胞质分裂为同时型,成熟花粉为二细胞型,这些都与木通科相似^[26~28],而其腺质绒毡层、四面体型四分体等胚胎学特征则与木通科的原始类群——猫儿屎属 (*Decaisnea*) 比较接近^[28]。

但是,单叶血藤也表现出自己的特点:其花药壁发育过程中,周缘细胞经 2 次平周分裂形成 4 层壁细胞后,有些细胞仍能进行一次平周分裂,最后形成药室内壁 1~2 层,中层 3~4 层,绒毡层 1~2 层。Davis^[18]认为,药壁细胞具有分裂能力是一个原始的性状。单叶血藤的花药壁在发育过程中,各层细胞都具有不同程度的平周分裂能力,结合其心皮及茎、叶等方面的特征,把大血藤属从木通科中分出来另立为大血藤科似乎是比较稳妥的分类学处理。

致谢:本项研究承西北大学石建孝老师提供实验材料,并得到西北大学胡正海教授的悉心指导,谨表衷心感谢。

参考文献:

- [1] 应俊生,张玉龙. 中国种子植物特有属[M]. 北京:科学出版社,1994. 536-539.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.《中华本草》精选本[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996. 571-574.
- [3] 夏泉,孔杰. 木通科、大血藤科叶的形态学解剖学研究及其在分类学中的意义[J]. 植物研究,1990,10(3):113-126.
- [4] 曲式曾,梅秀英,姜在民. 单叶血藤和大血藤叶片的比较形态学研究[J]. 西北植物学报,1993,13(5):53-56.
- [5] 夏泉,彭泽祥. 木通科、大血藤科种子的研究: I 种皮的扫描电镜观察[J]. 植物分类学报,1989,27(4):273-276.
- [6] 李钧敏,陈永辉,金则新,等. 大血藤黄酮类化合物的提取与分析[J]. 武汉植物研究,2002,20(2):157-161.
- [7] 李珠莲,梁国建,徐光满. 红藤化学成分研究[J]. 中草药,1984,15(7):9-11.
- [8] 苗抗立,张建中,王飞音,等. 红藤化学成分的研究[J]. 中草药,1995,26(4):171-173.
- [9] 金则新,李钧敏,钟章成,等. 大血藤叶片生化成分的动态变化[J]. 武汉植物研究,2002,20(4):303-307.
- [10] 李钧敏,金则新,钟章成,等. 大血藤不同器官黄酮类化合物含量的季节变化[J]. 植物资源与环境学报,2002,11(1):57-58.
- [11] 蒋洪,刘乐乐,王宏伟,等. 红藤化学成分及临床作用的研究进展[J]. 内蒙古科技与经济,2002,(3):120;127.
- [12] NOWICKE J W, SKVARLA J J. Pollen morphology and the relations of *Circaeaster*, of *Kingdonia*, and of *Sargentodoxa* to the *Ranunculales* [J]. Amer J Bot, 1982,69(6):990-998.
- [13] 夏泉,彭泽祥. 木通科、大血藤科的花粉形态研究及其在分类学中的意义[J]. 植物研究,1989,9(4):99-114.

- [14] 夏泉,孔杰.木通科、大血藤科花粉壁的超微结构研究[J].植物研究,1991,11(4):93-98.
- [15] 韦仲新,李德铎.大血藤科花粉形态及外壁超微结构的研究[J].云南植物研究,1995,17(2):197-200.
- [16] 曲式曾,闵成林.大血藤属一新种——单叶血藤[J].植物研究,1986,6(2):87-90.
- [17] 胡适宜.被子植物胚胎学[M].北京:人民教育出版社,1982.20-54.
- [18] DAVIS G L. Systematic embryology of the Angiosperms[M]. New York; London Sydney: John Wiley & Sons, Inc, 1966. 6-27.
- [19] 戴大临,郭建民,梁昌恒,等.润楠雄配子体发育的超微结构研究Ⅳ[J].西南师范大学学报(自然科学版),1990,15(1):84-92.
- [20] 胡适宜,徐丽云,马纯燕.春兰花药壁及其绒毡层特性[J].植物学报,1992,34(8):581-587.
- [21] 徐奇元,韩翠芳,杨经略.糜子绒毡层及雄配子体的超微结构[J].内蒙古农牧学院学报,1994,15(2):51-55.
- [22] 梁秀银,张仪,刘淑君,等.芝麻花药绒毡层发育的超微结构的研究[J].农业生物技术学报,1994,2(2):54-60.
- [23] ECHLIN P, GODWIN H. The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Helleborus foetidus* L: I The development of the taptum and ubisch bodies[J]. L Cell Sci, 1968, 3: 161-174.
- [24] ROWLEY J R. Ubisch body development in *Poa annua*[J]. Grana palynologica, 1963, 4: 25-36.
- [25] PIFFANELLI P, ROSS J H E, MURPHY D J. Biogenesis and function of the lipidic structures of pollen grains[J]. Sex Plant Reprod, 1998, 11: 65-80.
- [26] BHATNAGAR S P. Some observations on the embryology of *Holboellia latifolia* Wall [J]. Curr Sci, 1965, 34: 28-29.
- [27] YOSHIDA O, MICHIKAWA A. Embryological studies of genus *Akebia* Decne. Coll[J]. Arts Chiba Univ, 1973, B-6: 25-37.
- [28] SWAMY B G L. Some observations on the embryology of *Decaisnea insignis* Hook. et Thoms [J]. Proceedings of the National Institute of Science of India, 1953, 19(2): 307-310.

(编辑 徐象平)

A study on the Embryology in *Sargentodoxa simplicifolia*: the Formation of Microspores and Development of Male Gametes

LIU Wen-zhe, SHENG Xian-yong

(College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: The formation of microspores and development of male gametes in *Sargentodoxa simplicifolia* are first reported. Its anther wall development follows the basic type. By 2 periclinal cell divisions, the primary parietal layer produces 4 layers, which finally develop into fibrous endothecium, middle layers and tapetums. During this course, some cells of the 4 layers show the ability of periclinal cell division. Ubisch bodies and lipid bodies are found in the glandular tapetums. In meiosis of microsporocyte, cytokinesis is a simultaneous type, which produces an isobilateral tetrad. Pollen grains are two-celled mature.

Key words: Sargentodoxaceae; *Sargentodoxa simplicifolia*; embryology; microspore; male gamete

图版说明

(1. × 200; 21. × 400; 24. × 800; 17, 20. × 3500; 其余都是 × 2000。)

版图 I 1. 4 个小孢子囊同侧排列 2. 周缘细胞和初生造胞细胞平周分裂, 各产生 2 个细胞 3. 2 层次生壁细胞及次生造胞细胞 4. 4 层次生壁细胞及次生造胞细胞 5. 4 层壁细胞都能进行平周分裂 6. 7 绒毡层形成, 内侧中层解体 8. 小孢子母细胞及花药壁 9~14. 小孢子母细胞减数分裂各个时期 15. 刚从四分体分离出来的小孢子

版图 II 16. 脂质球状体进入小孢子囊, 并附着在小孢子上, 花粉外壁随之形成 17. 脂质球状体增大, 乌氏体(↓)进入小孢子囊, 并附着在小孢子上, 绒毡层原生质体解体 18. 单核靠边期, 绒毡层细胞中仅有几个大的脂质球状体(↗)和排列在内切向壁和径向壁上的乌氏体(↑), 原生质体完全解体 19. 二细胞花粉粒刚形成时的花药壁, 生殖细胞贴在花粉壁上 20. 生殖细胞脱离花粉壁, 进入营养细胞质中 21. 开裂后的花药壁 22~24. 荧光显微照片 22. 胼胝质包裹的小孢子母细胞 23. 胼胝质包裹的四分体 24. 成熟花粉粒和纤维状加厚的药室内壁。