

乌氏体形成·在花粉发育中的作用及研究进展

石晶 (宁夏大学生命科学学院, 宁夏银川 750021)

摘要 绒毡层在花粉发育过程中起到至关重要的作用。乌氏体是绒毡层上特有的结构,它参与绒毡层的降解、花粉外壁的形成。对于乌氏体对识别蛋白的转运作用主要表现在运输营养物质、花粉鞘物质、孢粉素、酶、识别蛋白等。综述了乌氏体的形成过程,参与花粉壁发育的过程以及目前国内外对于乌氏体的研究进展。

关键词 乌氏体;绒毡层;花粉发育

中图分类号 Q944.42 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)33-16234-03

Formation of Ubisch Body and Its Function in the Development of Pollen and the Related Progress

SHI Jing (School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract Tapetum plays an important role in the pollen development. Ubisch body, as a special structure of tapetum, involves in the degradation of tapetum and exine formation. Ubisch body participates in the transportation of nutrients, pollenkit, sporopollenin, enzyme and certain recognition protein. The formation process of ubisch body, its participation in the exine development and the related research progresses at home and abroad were summarized.

Key words Ubisch body; Tapetum; Pollen development

高等植物配子的产生,需要单倍体的配子体细胞和二倍体的孢子体细胞的共同参与。当花药的形态发生完成后,小孢子母细胞被4层二倍体的壁细胞所围绕。这4层细胞从外向内依次是表皮层、内皮层、中层和绒毡层。作为花药壁的最内层,绒毡层直接与发育中的配子体相互作用。此外,在绒毡层上还存在着一种特殊的结构——乌氏体,乌氏体参与绒毡层向花粉的物质运输过程中,所以乌氏体与绒毡层在从小孢子到花粉粒的发育过程中都起到至关重要的作用。因此,对绒毡层及乌氏体的功能及其分子机制的研究,以及对独特的遗传程序的探讨,已成为花粉生物学研究中一个越来越令人着迷的领域。

1 乌氏体的形成

1.1 前乌氏体的形成 从花药发育早期到花粉形成阶段,绒毡层细胞靠近质膜的边缘经常可以观察到一些电子致密的小体。当绒毡层细胞中的内质网分泌这些电子致密物质时,内质网的某些区域表现膨大。这些小体无结构特征,在大小、外貌和形态学上类似于乌氏体的核心部分,将它们称为前乌氏体^[1]。起初这些电子致密小体集中于质膜内侧。接下来在同一个细胞的内部也发现了电子致密的小体,并且位于内质网特定的分泌区域。此外更多的证据也证实了该电子致密小体是由内质网分泌的,有的位于核被膜附近。所以,在此时期内质网遍布了从核膜到接近质膜的很多区域,伴随着电子致密小体的分泌。

1.2 乌氏体的形成 当小孢子仍然是单核的时候,绒毡层内部的内质网越来越膨大。电子致密小体逐渐变大并显现。有的能通过细胞质内的通道被完全释放出来,有些没有通过的被吸附在细胞壁上,有些结合在一起形成多样的结构。在众多延伸形成物中乌氏体的结构是很容易被观察到的,它们以类似于单位膜的片层结构聚集在一起。当这些形成物变为球状,它们作为一个整体便不容易被识别,但是这种生生的单位膜仍然被偶然观察到^[2-4]。这些延伸物的形态看起

来介于前乌氏体和乌氏体之间,它们一直扩展到绒毡层和花粉的药室腔中。电子致密小体似乎以单位膜的形式迅速结合并连接在一起,偶尔看起来类似于纺锤的结构。在乌氏体形成的过程中电子致密小体作为核心体,新形成的结构一层一层沉积在原有的结构之上,由此逐渐形成了乌氏体的类似于圆球的结构。当乌氏体结构完全形成以后偶然还会看到它们的片层膜结构。

当绒毡层细胞中的乌氏体形成后,它们大部分位于较宽阔的通道中,这些通道贯穿着整个细胞质并且没有明显的排布规律。这些通道起始于绒毡层细胞内的内质网潴泡,并且互相伴行最终通向花药的药室腔。通道在它们的全长中每一处的横截面是不一样的,但是通常沿着细胞质的边缘表现出发射状。通道的壁由单位膜构成,并且通常与内质网相连接。在这个时期内质网在绒毡层细胞中高度发达。当绒毡层细胞发育得较为成熟以后,似乎已经没有了质膜,所以此时细胞质是间接地与花药药室腔相连接的。

1.3 乌氏体和花粉外壁 乌氏体随着绒毡层细胞质中的通道一直到达了花药的药室腔中。它们沿着绒毡层细胞的表面,间接与花药的药室腔相连接。很难观察到乌氏体直接吸附在小孢子表面。之前观察到的结果表明乌氏体的表面形态和花粉外壁的形态表现出一定的相似性,这证实了乌氏体和花粉外壁存在着一定的连续性。

花粉外壁在形态和结构的组成物上都类似于乌氏体,都是通过单位膜而形成的较长的片层结构,这些单位膜彼此紧密叠加构成复合的片层结构,从而为花粉表面提供一定的强度和坚实度。这些片层结构在花粉表面的基部很容易被观察到,并且在基部位置处片层结构并没有像花粉表面部分那样结构紧密。乌氏体也表现出同样的片层结构并且偶尔还可以在横切面上看到这些片层结构。

Echlin 等指出当围绕着小孢子和绒毡层细胞的胼胝质破裂后,乌氏体前体被挤压出来遍布在绒毡层细胞的细胞膜周围^[5]。在这里它们起初维持在花药内壁沟壑的表面,随后不规则附着在花粉表面。伴随着花粉粒的发育,孢粉素不断沉积。在大多数情况下,孢粉素积累的晚期伴随着单位膜透

作者简介 石晶(1982-),女,宁夏银川人,硕士,助教,从事植物分子生物学研究。

收稿日期 2009-10-09

明带的增厚。当绒毡层降解以后,类似于乌氏体的形成物遍布花药药室空间,有的独立存在,有的与其他膜系统或细胞器结合起来。

乌氏体前体、未成熟的乌氏体和发育完全的乌氏体,经历着绒毡层细胞中细胞质的各种修饰,从起始于内质网通道的电子致密小体到形成为紧密结合的膜结构,它们广泛分布于细胞质中的每一个通道上,并终止于花药的药室腔。最终,乌氏体以圆球形的结构完全沉积,并且可以在小孢子外侧明显看到。电子致密小体在这些圆球形乌氏体结构的中心仍然能够观察到。

2 乌氏体在花粉发育中的作用

在小孢子晚期,可以将不同花药的绒毡层分化为分泌型和变形型 2 种类型^[6]。分泌型绒毡层的内质网较变形绒毡层的发达,并不断向花粉粒分泌脂肪滴和小泡,变形绒毡层解体后原生质围绕于花粉的周围,供其发育之需。在二胞晚期,2 种类型的绒毡层都完全消失。分泌型绒毡层在花粉发育过程中会产生大量的乌氏体。它们分布在绒毡层的内切向壁上,是一些电子密度较液泡略深的球形小泡前体。成熟的乌氏体近似球形,其典型结构是:中央为来源于前乌氏体的乌氏体芯,外被厚薄不均的高电子密度的孢粉素物质。乌氏体上的孢粉素在靠药室腔一侧积累较厚,在靠绒毡层一侧积累较薄而成为一种不对称的结构。当花粉发育至单胞花粉中期,乌氏体外表面已沉积有少量孢粉素物质,此时大多数前乌氏体已部分暴露于药室腔。花粉发育至单胞花粉晚期时,由于孢粉素物质的逐渐积累而使乌氏体发育成熟,它们较为均匀地排列在药室腔内表面上。花粉发育至花粉充实期,花粉外壁及内壁基本发育成熟,外壁外层表面由于孢粉素物质的不均匀沉积而显得参差不齐^[7-8]。花粉完全成熟时,绒毡层细胞已完成其使命而完全退化解体,仅留 1 条小而窄的带状痕迹,此时绝大多数乌氏体以单个的形式存在,也有的 2~3 个聚在一起,大体上较均匀地分布于整个药室腔的表面。

绒毡层上的乌氏体对花粉外壁发育是必不可少的。关于乌氏体的功能,大量研究认为,乌氏体可能参与绒毡层壁的降解、花粉外壁的形成、识别蛋白的转运等。乌氏体的转运作用目前已经有大量报道,主要表现在运输营养物质、花粉鞘物质、孢粉素、酶、识别蛋白等。

3 研究进展

植物花药绒毡层对花粉的发育起着重要作用,如向药室内转运养分,为花粉发育提供营养物质,通过分泌胼胝质酶影响小孢子的发生,释放花粉鞘物质从而控制花粉壁结构等。分泌型绒毡层在花粉发育过程中产生大量的乌氏体,乌氏体在花粉发育、绒毡层向花粉的营养运输以及绒毡层发育及降解过程中都发挥着重要的作用。关于对乌氏体形态学和功能上的研究目前已经有一些报道^[9-11]。

傅建华等通过超薄切片和扫描电镜技术对水稻花药绒毡层及乌氏体的超微结构观察后证实,在水稻花粉母细胞期,水稻花药绒毡层细胞原生质浓,细胞器丰富,各轴向壁厚度较一致^[1]。随着药室腔增大,绒毡层细胞体积也迅速增大,且外切向壁增厚,径切向壁部分区域消失,细胞间形成原

生质桥。在单胞花粉早期,绒毡层细胞中单核或双核的核质浓,细胞器丰富,特别是内质网和质体高度发达。乌氏前体排列于绒毡层内切向细胞膜内,随后移向膜外,且外侧增厚形成乌氏体。孢粉素物质在乌氏体表面不断积累。在花粉单核靠边期,绒毡层细胞的细胞器开始解体,原生质稀薄,细胞器水量减少。由于孢粉素物质的逐渐积累使得乌氏体发育成熟,到成熟花粉时期,花粉外壁及内壁基本发育成熟,绒毡层细胞厚度变薄,细胞核消失,细胞器降解直至退化。此外,目前多数研究者认为乌氏体起源于内质网,在个别物种中也有观点认为起源于线粒体。在对水稻的花粉发育观察后表明水稻的乌氏体前体起源于内质网。

此外,有研究证实 Ca^{2+} 作为胞内第二信使在植物有性生殖过程中参与花粉的发育、萌发和花粉管的生长^[12]。Tirlapur 等应用荧光标记方法研究了花粉发育过程中花药 Ca^{2+} 的分布,认为 Ca^{2+} 有从绒毡层向小孢子(花粉)转运的趋势,但 Ca^{2+} 从绒毡层转运到花粉表面的途径却一直不能确定^[13]。Tian 等发现 Ca^{2+} 在药壁和花粉内的异常分布是导致花粉败育的一个原因,并发现乌氏体和花粉表面上有 Ca^{2+} 的分布^[14]。孟祥红等利用焦锑酸钾沉淀法研究了小麦花药发育过程中 Ca^{2+} 的分布^[15]。通过 Ca^{2+} 定位结果显示,在花粉母细胞时期或减数分裂时期,花粉母细胞表面均无 Ca^{2+} 的分布,而绒毡层细胞中 Ca^{2+} 有逐渐增加的趋势。当花粉发育至 4 分体末期,小孢子表面已有 Ca^{2+} 分布。在靠近绒毡层的小孢子壁表面和小孢子间的壁表面 Ca^{2+} 分布较多。此时绒毡层细胞内切向壁已经解体,有些乌氏体分布在药室内,其表面有较大的沉淀颗粒分布,内部分布有较小的沉淀颗粒。花药进一步发育,花粉外壁逐渐形成, Ca^{2+} 主要分布在花粉外壁的表面,数量较多,花粉内部亦有体积相对较小的 Ca^{2+} 沉淀颗粒。与此同时药室内携带 Ca^{2+} 的乌氏体数量较多, Ca^{2+} 主要分布在乌氏体的表面。成熟花粉时期,在花粉内部、花粉表面、乌氏体表面、解体的绒毡层内切向面均覆盖有 1 层 Ca^{2+} 沉淀颗粒。

对于乌氏体参与花粉发育在分子机理上的研究,Wang 等发现了在水稻和小麦花药中特异表达的基因。他们认为乌氏体目前还没有被分离出来,主要是由于乌氏体形态较小,通常附着在绒毡层细胞壁上,很难分离,并且它们的生化功能目前还没有被证实^[8]。乌氏体在十字花科的油菜和拟南芥等植物中是不存在的,而在这些植物中绒毡层是如何支持花粉发育的,目前已经研究得比较清楚。所以对于乌氏体分子生物学的研究仍然相对较少。*RAFTIN1* 基因是在水稻和小麦的花药中特异表达的基因,它对于花粉和花药的正常发育是必不可少的。通过 RT-PCR 结果证实 *RAFTIN1* 基因只在未成熟的花序中表达,在根、茎、叶和去雄的花序中均没有表达。通过 Western blot 试验,进一步证实 *RAFTIN1* 蛋白的时空表达模式,与 RT-PCR 结果一致。随后他们通过免疫胶体金试验确定了 *RAFTIN1* 蛋白特定的作用部位,结果证实 *RAFTIN1* 蛋白定位于花药的绒毡层、乌氏体、药室腔内部以及小孢子上。在小孢子内部并没有检测到金颗粒,所以他们认为 *RAFTIN1* 蛋白基本不在小孢子的细胞质中定位,即使有表达,也是非常微量的。所以 *RAFTIN1* 蛋白的定位情

况基本确定了 RAFTIN1 蛋白是在花药绒毡层中合成的,之后通过乌氏体的包裹,在小孢子发育的一定阶段转运给小孢子。

花药发育过程中,绒毡层适时分泌营养物质,以提供正常的花粉发育所需。乌氏体作为分泌型绒毡层在花粉发育过程中产生的特定结构必然要发挥特定的功能。目前对于乌氏体的结构特征以及参与花粉发育的分子机理,已经积累了一定的研究基础。但是这些研究对于真正揭示乌氏体的起源,作用方式及分子特征还远远不够。特别是关于乌氏体在药室内的分布位置仍然存在较大的争议。多数研究者认为,乌氏体在花粉发育的后期分布在绒毡层的内切向面,但是也有少数研究者在花粉发育后期的药室和花粉壁上发现了大量的乌氏体。林月婵等认为固定剂、缓冲液的 pH 等因素均会造成乌氏体的破裂,因此在药室内不容易观察到乌氏体^[16]。也许乌氏体在发育过程中位置的变化正是发挥其特定功能的有效途径。所以不同材料、不同发育时期、不同固定方法所产生的乌氏体分布有差异是正常的。因此,对目前未知问题从不同角度加以深入研究将更有利于阐明乌氏体的功能。

参考文献

- [1] 傅建华,陈良碧,刘志玲,等.水稻花药绒毡层及乌氏体的超微结构观察[J].生命科学研究,1996,3(2):155-160.
- [2] CARNIEL K. Licht-und elektronenmikroskopische untersuchung der ubisch korperentwicklung in der gattung oxalis[J]. Osterr Bot Z,1968,114:490-501.
- [3] ECHLIN P,GODWIN H. The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Hel-*

- leborus foetidus*[J]. Cell Sci,1968,3:161-174.
- [4] STEFAN V,ERIK S. Morphological and ultrastructural diversity of orbicules in gentianaceae[J]. Annals of Botany,2003,92:657-672.
- [5] ECHLIN P,GODWIN H. The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Hel-leborus foetidus* L. I. The development of the tapetum and Ubisch bodies [J]. Journal of Cell Science,1968,3:161-174.
- [6] 韩莉. 牡丹绒毡层的超微结构[J]. 临沂师范学院学报,2002,24(3):50-53.
- [7] ARIIZUMI T,HATAKEYAMA K,HINATA K,et al. A novel male-sterile mutant of Arabidopsis thaliana,faceless pollen-1, produces pollen with a smooth surface and an acetolysis-sensitive exine[J]. Plant Mol Biol,2003,53:107-116.
- [8] WANG A,XIA Q,XIE W,et al. The classical Ubisch bodies carry a sporophytically produced structural protein(RAFTIN)that is essential for pollen development[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2003,100:14487-14492.
- [9] BEATRIZ G,FEDERICO M,MARINA M,et al. Pollen,tapetum and orbicule development in modiolastrum malvifolium[J]. Annals of Botany,2007,99:755-763.
- [10] VINCKIER S,SMETS E. Morphological and ultrastructural diversity of orbicules in gentianaceae[J]. Annals of Botany,2002,90:647-662.
- [11] STEER M. Differentiation of the tapetum in Avena[J]. Cell Sci,1977,25:125-138.
- [12] 马力耕,徐小冬,崔素娟,等. 细胞外钙调素对花粉萌发和花粉管伸长的影响[J]. 科学通报,1997,42(24):2648-2652.
- [13] TIRLAPUR U,WILLEMESE M. Changes in calcium and calmodulin levels during microsporogenesis,pollen development and germination in *Gasteria verrucosa*[J]. Sex Plant Reprod,1992,5:214-223.
- [14] TIAN H,KUANG A,MUSGRAVE M,et al. Calcium distribution in fertile and sterile anthers of a photoperiod-sensitive genic male-sterile rice[J]. Planta,1998,204:183-192.
- [15] 孟祥红,王建波,利容干. 光周期对光敏胞质不育小麦花粉发育过程中 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 植物学报,2000(1):15-22.
- [16] 林月婵,张志宇,何国藩. 水稻雄蕊发育的亚显微结构研究. I. 花粉外壁形成的亚显微结构[J]. 中山大学学报,1977(3):82-87.

(上接第 16226 页)

橡胶分子链开始断裂,故观察到的试样均从 360 °C 左右开始分解,这与图 3 和表 4 中各样品的起始分解温度(T_d)相差并不大相符合。

3 结论与讨论

(1)DMA 分析结果表明,天然橡胶/TiO₂ 纳米复合材料的玻璃化转变温度普遍高于纯天然橡胶样品。

(2)该研究总结了 Eyring 关于玻璃化转变动力学方程的描述,求出了天然橡胶硫化橡胶空白样、天然橡胶/TiO₂ 复合材料(TiO₂ 含量分别为 0.1%、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%)的玻璃化转变活化能分别为 71.089、108.534、74.915、79.417、73.021、85.437 kJ/mol。

(3)试验结果表明,纳米复合材料的玻璃化转变活化能不仅与玻璃化转变温度有关,而且与基体及填料的相互作用有关。

(4)热重分析结果表明,纳米 TiO₂ 填料对材料的热稳定性影响不大。

(5)通过热降解动力学分析,求得硫化橡胶空白样、天然橡胶/TiO₂ 纳米复合材料(TiO₂ 含量分别为 0.1%、0.5%、1.0%、2.0%)的分解活化能分别为 229.699、231.085、201.727、219.107、208.249 kJ/mol;指前因子分别为 $5.07 \times$

10^{17} 、 8.46×10^{17} 、 2.94×10^{15} 、 8.03×10^{16} 、 1.04×10^{16} /s。

参考文献

- [1] 何映平. 天然橡胶加工学[M]. 海口:海南出版社,2007:4-5.
- [2] FUJISHIMA A,HONDA K. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode[J]. Nature,1972,238:37.
- [3] 熊明娜,周树学,陈辉,等. 溶胶-凝胶法制备丙烯酸树脂/TiO₂ 有机-无机杂化材料及其结构表征[J]. 高分子学报,2005(3):417-422.
- [4] 何曼君,陈维孝,董西峡. 高分子物理[M]. 上海:复旦大学出版社,2003:224-227.
- [5] 过梅丽. 高聚物与复合材料的动态力学热分析[M]. 北京:化学工业出版社,2002:61-63.
- [6] L·E·尼尔生. 高分子和复合材料的力学性能[M]. 丁佳鼎,译. 北京:轻工业出版社,1981:310-314.
- [7] PARK J W,OH S C,LEE H P,et al. A kinetic analysis of thermal degradation of polymers using a dynamic method[J]. Polymer Degradation Stability,2000,67(3):535-540.
- [8] OZAWA T. A new method of analyzing thermogravimetric data[J]. Bulletin of Chemical Society of Japan,1965,38(11):1881-1886.
- [9] 胡荣祖,史启祯. 热分析动力学[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [10] 张俐娜,薛奇,莫志深,等. 高分子物理近代研究方法[M]. 武昌:武汉大学出版社,2003:233-234.
- [11] COATSA W,REDFERN J P. Kinetic parameters from thermogravimetric data[J]. Nature,1964,201(4914):68-69.
- [12] 芦艾,王建华. 水发泡聚氨酯泡沫塑料的热分解[J]. 中国塑料,1999,13(10):38-42.
- [13] 高大元,何碧,何松伟,等. 氟橡胶 F2314 黏结剂的热分解动力学[J]. 火炸药学报,2006,29(5):29-31.