

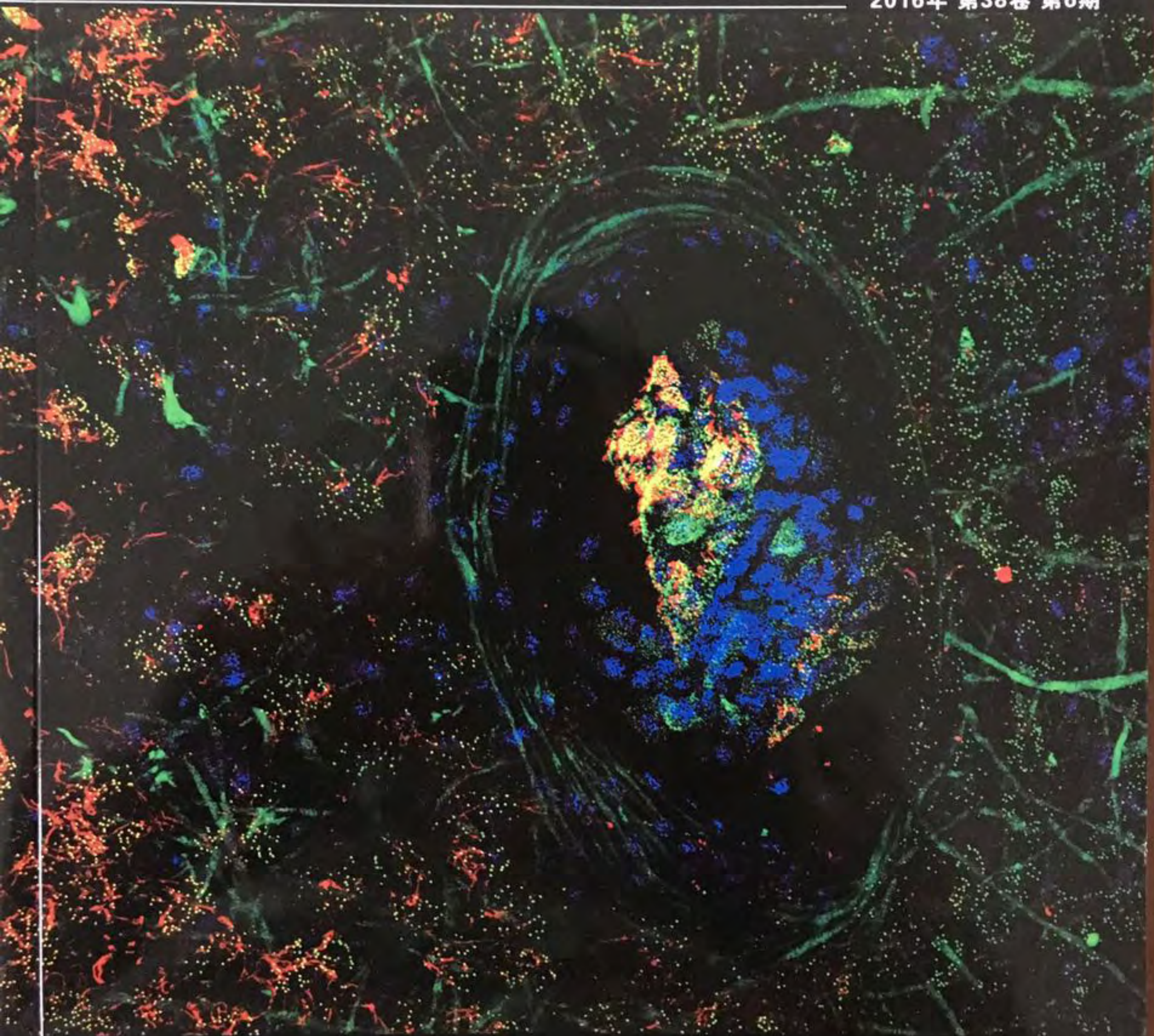
中文核心期刊
中国科技论文统计源期刊
《中国生物医学文献数据库》收录期刊
美国《化学文摘》(CA)收录期刊

ISSN 1674-7666 CN 31-2035/Q

中国细胞生物学学报

CHINESE JOURNAL OF CELL BIOLOGY

Vol.38, No.6, 2016
2016年 第38卷 第6期



中国科学院主管

中国科学院上海生命科学研究院
生物化学与细胞生物学研究所 主办
中国细胞生物学学会



目次

领域前沿·中国

去泛素化酶OTUD3通过稳定PTEN抑制癌症发生发展 李洪昌 张鹏飞 袁林 张令强 657

研究论文

*IQGAP1*通过ERK信号通路促进非小细胞肺癌细胞增殖 赵明娜 姜加陶 662
 金丝桃花药发育的细胞化学研究 魏冬梅 杨淑娟 杨日升 669
 miR-92a对大鼠骨髓源性内皮祖细胞功能的影响 宿云娟 孙玉聪 楚海荣 李宏 崔晓栋 王钢 成敏 676
 网状内皮增生症病毒感染改变外泌体蛋白质组成和免疫调节功能 庄萍萍 王小满 孟薇 李根 成子强 王桂花 682
 羊核因子I/B的3个蛋白质异构体功能差异分析 张潇飞 宋鹤 荣恩光 杨华 闫晓红 李玉茂 李辉 王宁 691
 转录因子GATA3 mRNA 5'非翻译区内部核糖体进入位点的活性 陶义芬 马晶 朱瑞宇 段作营 金坚 李华钟 701

技术与方法

一种发育期皮质脊髓投射神经细胞基因表达谱的研究方法 曲春生 赵月娥 陈嘉琦 高英 709

教学研究

探索细胞生物学综合性实验课促进科研与教学的紧密结合 孙铮 孙媛 王茜 张开立 程晓馨 马景昕 刘铭 刘晓宇 张朋 715

综述

大肠杆菌SeqA蛋白质结构与功能 乌日汗 梁燕 李静 莫日根 721
 肌细胞特异性microRNAs生物学效应研究进展 韩晓杰 杨莎莎 段婷婷 徐玉东 王宇 杨永清 尹磊森 729
 人体平衡型核苷转运蛋白的结构及应用研究进展 郝振宇 刘瑞华 王莹莹 Mark Bartlam 736
 三角涡虫: 在体筛选再生及衰老相关药物的模型生物 徐振彪 宋林霞 744
 TRAIL耐药的研究进展 谢悠扬 林睿明 许伟榕 750
 干细胞治疗年龄相关性黄斑变性的临床研究进展 祝贺 王磊 吴骏 郝捷 759

封面照片

在生命之花簇拥的暖巢里, 安静地睡着一只小小的雏鸟。样品取材自涡虫咽部, 是人工去除咽部以后再生长到56小时的咽部, 从咽孔里伸出来。“巢”周围的花朵和蜷缩的雏鸟, 红色的是纤毛, 绿色的是中心粒, 蓝色的是核, “巢”是咽孔的肌肉组织(作者: 李亚萍)。

金丝桃花药发育的细胞化学研究

魏冬梅^{1,2*} 杨淑娟³ 杨日升²

(¹台州学院生命科学院, 台州 318000; ²浙江康能食品有限公司, 天台 317200; ³宁夏大学生命科学学院, 银川 750021)

摘要 花药发育过程中多糖和脂滴物质的代谢具有时空变化特征。不同植物的代谢特征有很大差异。该研究采用组织化学的方法对金丝桃花药发育中多糖和脂滴的动态分布进行观察。研究发现, 多糖和脂滴的分布具有一定的规律。在造孢细胞时期, 维管束周围的药隔薄壁细胞和花药壁的表皮、药室内壁和中间层细胞中积累淀粉多糖, 而绒毡层细胞中没有淀粉多糖。在小孢子早期, 绒毡层细胞中出现淀粉多糖并且数量逐渐增加; 此时, 单核中位期小孢子中也出现淀粉多糖。到小孢子晚期, 绒毡层细胞中积累的淀粉多糖消失, 同时出现脂滴; 晚期小孢子中也开始出现脂滴。到二胞花粉时期, 绒毡层细胞原位解体, 花粉中脂滴数量增加。金丝桃相当数量的花粉在小孢子时期发生异常。开花时, 大多数花粉内为空腔, 没有淀粉多糖和脂滴积累, 花粉败育。发育正常的花粉内充满了淀粉多糖和脂滴。

关键词 金丝桃; 花药发育; 细胞化学; 淀粉多糖; 脂滴

Cytochemical Study on the Anther Development of *Hypericum monogynum* L.

Wei Dongmei^{1,2*}, Yang Shujuan³, Yang Risheng²

(¹School of Life Science, Taizhou University, Taizhou 318000, China; ²Zhejiang Kangneng Foodstuffs Co., Ltd., Tiantai 317200, China; ³School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract The metabolisms of polysaccharides and lipids have temporal and spatial characteristic during the anther development. The metabolic characteristics of polysaccharides and lipids differ with plant species. The dynamic distribution of polysaccharides and lipids was observed in the anther developmental processes of *Hypericum monogynum* L. by histochemical methods. The results showed the distribution of polysaccharides and lipids displayed some characters. At the stage of sporogenous cell, a lot of starch polysaccharides were accumulated in parenchyma cells around vascular bundle, epidermis, endothecium and middle layer cells but no starch in tapetal cells. At the stage of early microspore, tapetal cells began to accumulate starch polysaccharides and gradually increased, and starch polysaccharides appeared in microspores. At stage of late microspore, starch polysaccharides disappeared, and lipids began to accumulate in tapetal cells and microspores. At the stage of bicellular pollen, tapetal cells degenerated *in situ*, and the lipid content of bicellular pollen significantly increased. Few of normal pollens were filled with starch polysaccharides and lipids as nutritional substances. Most of pollens happened to be abnormal at the stage of microspore. At anthesis, these pollens were empty without starch polysaccharides and lipids resulting in abortion of pollen grains finally. Fertile pollens were filled with starch polysaccharides and lipids.

Keywords *Hypericum monogynum* L.; anther development; cytochemistry; starch polysaccharides; lipid

收稿日期: 2016-02-23

接受日期: 2016-04-25

浙江省自然科学基金(批准号: Y3110395)和浙江省教育厅高等学校访问学者专业发展项目(批准号: FX2014116)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0576-88660338, E-mail: weidongmei@tzc.edu.cn

Received: February 23, 2016

Accepted: April 25, 2016

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.Y3110395) and the Program of Domestic Professional Universities to Study for Young Scholar of Zhejiang Province (Grant No.FX2014116)

*Corresponding author. Tel: +86-576-88660338, E-mail: weidongmei@tzc.edu.cn

网络出版时间: 2016-07-01 15:53:34

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160701.1553.004.html>

花药是被子植物的雄性生殖器官,其发育是一个非常精巧而复杂的调控过程,最终形成了具有保护功能的药壁组织和生殖功能的雄配子体——花粉。花药的发育伴随着结构和生理的诸多变化过程,这些变化因植物种类各异。花药发育的一个显著变化特征是作为“池”吸收体内其他营养器官提供的营养物质,为药壁组织分化、花粉个体发生、花粉管的生长以及花粉管进入花柱提供物质和能量^[1]。营养物质积累或代谢异常往往导致花粉败育^[2-6]。

花药中营养物质的代谢包括运输和转化两个过程。营养物质以可溶性糖的形式从植物体他处营养器官转移到花粉囊,供花粉发育利用或转化为淀粉储存。糖也可以转化为脂质,用于构建新的细胞膜或能量储存^[7]。花粉中营养物质的代谢具有一定的时空特征:一般在二胞花粉中开始大量积累营养物质,淀粉和脂滴主要分布在花粉的营养细胞中,生殖细胞中积累少量或不含脂滴^[8-9]。然而,在不同的植物中,花药的结构不同,积累营养物质的时间和种类也有差别,呈现出多样性。不同植物花药发育中的营养物质运输和转化规律还不清楚,需要人们进行更多的探索。

金丝桃(*Hypericum monogynum* L.)属藤黄科金丝桃属植物,半常绿小乔木或灌木。金丝桃果实及根可入药,果实课作连翘代用品,根能祛风、止咳、下乳、调经补血,并可治跌打损伤^[10]。金丝桃结实率与其应用价值密切相关。近年来,关于金丝桃的研究主要集中在化学成分和药理作用的分析^[11-12],对其有性生殖方面的研究还未见报道。本文对金丝桃花药发育及发育中多糖和脂滴营养物质的分布特征进行分析,期望揭示该种植物花药发育中营养物质的代谢特征,为其生殖生物学研究提供理论依据。

1 材料与方 法

供试材料金丝桃种植于台州学院校园内。5月中旬于金丝桃盛花期采集不同发育时期的花蕾,经醋酸洋红压片观察,确定花药的发育时期。分别取不同发育时期的金丝桃花药,迅速投入到含2.5%戊二醛、50 mmol/L二甲胂酸钠(pH7.0)缓冲液配制的前固定液中,室温固定3 h。用50 mmol/L二甲胂酸钠(pH7.0)缓冲液配制的洗涤液换洗3次,每次0.5 h;再将材料转入到含1%钨酸、50 mmol/L二甲胂酸钠(pH7.0)缓冲液配制的后固定液中,于4 °C下固定过

夜。次日,用相同的洗涤液洗涤3次,每次0.5 h。梯度系列丙酮脱水,Epon 812树脂包埋。用Leica Ultracut R型超薄切片机制作1 μm厚的半薄切片。染色步骤参照胡适宜和徐丽云的方法^[13],用高碘酸-希夫反应(Periodic Acid-Schiff stain, PAS)标记细胞中的多糖类物质,呈现红色;用苏丹黑B复染细胞中的中性脂滴物质,呈现黑色。用Leica-DMR显微镜进行观察和拍照。

2 结 果

金丝桃花药具有4个药室,其横切面呈2个药室位于一侧,中间由维管束和药隔薄壁细胞连接。花药由药壁组织和含花粉的药室组成(图1A)。根据花粉发育的结构特征,将花药分为:造孢细胞、小孢子母细胞、四分体、小孢子、二胞花粉早期和成熟花粉时期等6个时期。花药细胞中的多糖经PAS反应呈红色,淀粉多糖为红色颗粒。脂滴经苏丹黑B染色呈黑色颗粒,大的脂滴物质被染为黑色脂块。

2.1 多糖分布特征

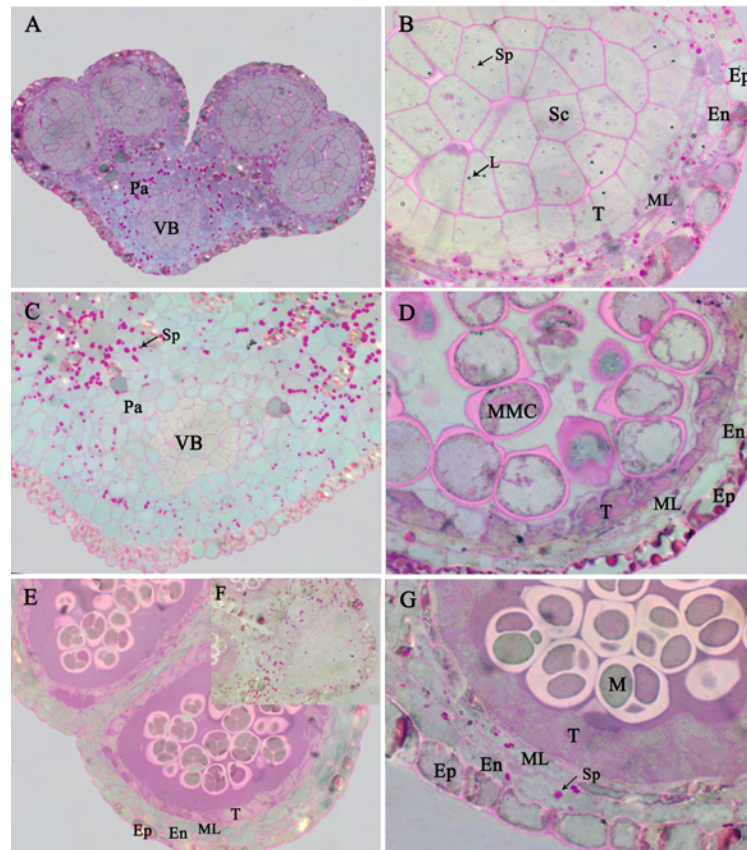
2.1.1 造孢细胞时期 金丝桃花药在造孢细胞时期已可区分出药壁各层细胞和造孢细胞。药壁各层细胞由外向内依次是:表皮、药室内壁、中层及绒毡层,中层有2~3层细胞组成(图1B)。绒毡层细胞与其内侧的造孢细胞形态相近,而与外侧的其他药壁细胞差别明显。在药隔薄壁细胞、表皮、药室内壁和中层细胞中均有淀粉多糖,但绒毡层细胞中没有淀粉多糖(图1B)。药隔薄壁细胞积累较多淀粉多糖的现象暗示着由花药维管组织转运到花药中的多糖物质经药隔薄壁细胞转运进入药室中。在药室中间的造孢细胞体积较大,排列紧密,细胞内含有少量小淀粉多糖颗粒(图1B)。

2.1.2 小孢子母细胞时期 花药发育到小孢子母细胞时期,有2个显著的变化:造孢细胞由原来的紧密排列变为松散排列,细胞之间有较大的间隙;此外,小孢子母细胞形成了一层较厚的胼胝质细胞壁。药壁各组织细胞中的淀粉多糖的分布也发生了明显的变化:表皮细胞中仍保留了一些较大颗粒的淀粉多糖,但药室内壁和中层细胞中的淀粉多糖消失。绒毡层细胞的外形不规则,与之前相比,细胞收缩变小,细胞中仍没有淀粉多糖;细胞核被染成红色,显示出其含有多糖物质。药隔薄壁细胞仍积累较多淀粉多糖,药隔维管束也被染成较浅的红色,显示细胞

内具有非颗粒状多糖分布(图1C)。小孢子母细胞外包裹一层厚厚的、染成红色的胼胝质壁。小孢子母细胞的细胞质液泡化程度高, 有一些小颗粒的淀粉多糖分布(图1D)。

2.1.3 四分体时期 金丝桃小孢子母细胞减数分裂为同时型, 形成的4个单倍体的小孢子呈正四面体

形。包围四分体的药室基质中充满PAS阳性反应的多糖类物质(图1E)。小孢子四分体的外形不规则, 小孢子中没有淀粉多糖积累。药隔薄壁细胞中仍有淀粉多糖分布, 但数量下降(图1F)。此时, 绒毡层细胞体积增大, 细胞核和细胞壁被染成红色。药室内壁和中间层细胞中有少量淀粉多糖(图1G)。



A: 造孢细胞(Sc)时期的金丝桃花药横切, 花药具有典型的碟形四花粉囊, 维管束(VB)周围的薄壁细胞(Pa)内积累大量的淀粉多糖(Sp)。B: 药壁分化出表皮(Ep)、药室内壁(En)、中层(ML)和绒毡层(T), 表皮、药室内壁和中层细胞中积累一些淀粉多糖, 绒毡层细胞中几乎没有淀粉和脂滴的积累, 造孢细胞中积累少量小颗粒的淀粉和脂滴。C: 小孢子母细胞(MMC)时期, 维管束细胞呈淡红色, 维管束周围的薄壁细胞离维管束距离加大, 积累淀粉颗粒增大, 数量增加。D: 小孢子母细胞被染成红色的胼胝质壁包裹, 其内积累少量淀粉粒和脂滴, 花药表皮细胞中积累大颗粒的淀粉多糖, 药室内壁、中层和绒毡层细胞中不含淀粉多糖和脂滴, 绒毡层细胞形态发生了较大变化。E: 小孢子母细胞减数分裂后形成四分体, 四分体仍被胼胝质壁包裹, 整个药室中充满着PAS阳性反应的多糖物质。F: 四分体时期, 维管束周围薄壁细胞内有淀粉多糖的积累。G: 四分体小孢子(M)中没有淀粉和脂滴的积累, 药室内壁和中间层细胞有少量淀粉多糖的积累, 表皮细胞没有营养物质的积累, 绒毡层细胞膨大, 其细胞质内含有被染成红色的多糖物质。En: 药室内壁; Ep: 表皮; L: 脂滴; M: 小孢子; MMC: 小孢子母细胞; ML: 中层; Pa: 薄壁细胞; Sc: 造孢细胞; Sp: 淀粉多糖; T: 绒毡层; VB: 维管束。A: 200×; B、D、G: 1 000×; C、E、F: 400×。

A: transverse section of an anther at the sporogenous cell stage of *Hypericum monogynum* L., with tetrasporangiate anthers. Lots of starch grains (stained red) are evident in parenchymal cells around vascular bundle. B: the anther wall is composed of epidermis, endothecium, middle layer, and tapetum cells. Some starch is visible in epidermis, endothecium, and middle layer cells. No starch and lipid droplet is in tapetal cells. Small starch grains and lipid droplets are visible in sporogenous cells. C: at MMC stage, vascular bundle cells are stained red. Abundant starch grains are accumulated in parenchymal cells. D: MMCs are wrapped in red callose walls. Little starch and lipid droplets are visible in MMCs. Large size starch grains are visible in epidermic cells. No starch and lipid droplet is in endothecium, middle layer, and tapetum cells. The morphology changes occur in tapetum cells. E: the tetrad stage is characterized by four microspores wrapped in red callose walls. The PAS-positive material is filled with pollen sac. F: starch grains are visible in parenchymal cells. G: no starch and lipid droplet is in microspores and epidermis. Little starch and lipid droplets are visible in endothecium and middle layer. The cytoplasm of tapetum cells is stained red. En: endothecium; Ep: epidermis; L: lipid droplet; M: microspore; MMC: microspore mother cell; ML: middle layer; Pa: parenchymal cell; Sc: sporogenous cell; T: tapetum; VB: vascular bundle. A: 200×; B,D,G: 1 000×; C,E,F: 400×.

图1 金丝桃幼小花药发育中多糖和脂滴的分布特征

Fig.1 Starch and lipid droplets distribution in young anthers of *Hypericum monogynum* L.

2.1.4 小孢子早期 刚从四分体释放出的游离小孢子,其细胞核位于中央,为小孢子早期,也被称为花粉单核中位期。早期小孢子内没有淀粉多糖的分布,小孢子内壁被染成红色,显示出其纤维素多糖性质,萌发孔处的内壁要厚一些。药壁组织中表皮细胞的细胞壁明显加厚,周缘分布的细胞质中含有明显的非颗粒多糖。药室内壁和中层细胞中的淀粉多糖消失(图2A)。绒毡层细胞发育成熟,细胞体积较大,细胞界限清晰,细胞质内出现了一些淀粉多糖,细胞核的核仁被染成红色,出现多核现象(图2A)。随着小孢子的发育,细胞中出现了淀粉多糖(图2B)。药壁绒毡层细胞形态再次变得不规则,体积减小,但细胞质内含物增加,淀粉多糖数量较以前增加。其他药壁细胞没有明显变化,药室内壁和中层细胞依然呈片状,细胞高度液泡化。表皮中的多糖物质减少(图2B)。此时,维管束周围的薄壁细胞中仍有大量淀粉多糖颗粒(图2C)。

2.1.5 小孢子晚期 小孢子发育到晚期,形成了一个液泡,将细胞核和细胞质挤到细胞边缘,也被称为花粉的单核靠边期。小孢子中淀粉多糖也呈现边缘分布(图2D)。药壁绒毡层细胞形状发生不规则变化,靠小孢子部位的绒毡层细胞呈现凹陷状,绒毡层细胞开始退化。绒毡层细胞中的淀粉多糖已完全消失。有些绒毡层细胞的细胞质内含物明显减少,染色很浅;有些绒毡层细胞质内含物仍较多,呈红色,显示其中含有多糖成分。药壁的药室内壁和中层细胞内仍有一些淀粉多糖,此时表皮细胞中也出现一些淀粉多糖(图2D)。在花药维管束周围的薄壁细胞中仍保持有较多的淀粉多糖,但较之前有所减少(图2E)。

2.1.6 二胞花粉至成熟花粉时期 小孢子经有丝分裂形成一个小的生殖细胞和一个体积较大的营养细胞,两者共处于同一花粉中,为二胞花粉。最初形成的生殖细胞呈透镜状贴在花粉内壁,其细胞核占据细胞的整个体积,细胞内没有淀粉分布。随着花粉的发育,生殖细胞脱离花粉壁,移入营养细胞中。营养细胞中的淀粉多糖明显增加。花粉发育成熟时,花粉中充满体积较大的淀粉多糖颗粒(图2F)。有些花粉粒营养细胞质内的营养物质开始自溶,呈空腔状态,这是花粉退化的迹象。此时,药隔薄壁细胞内仍有少量淀粉多糖颗粒(图2F)。

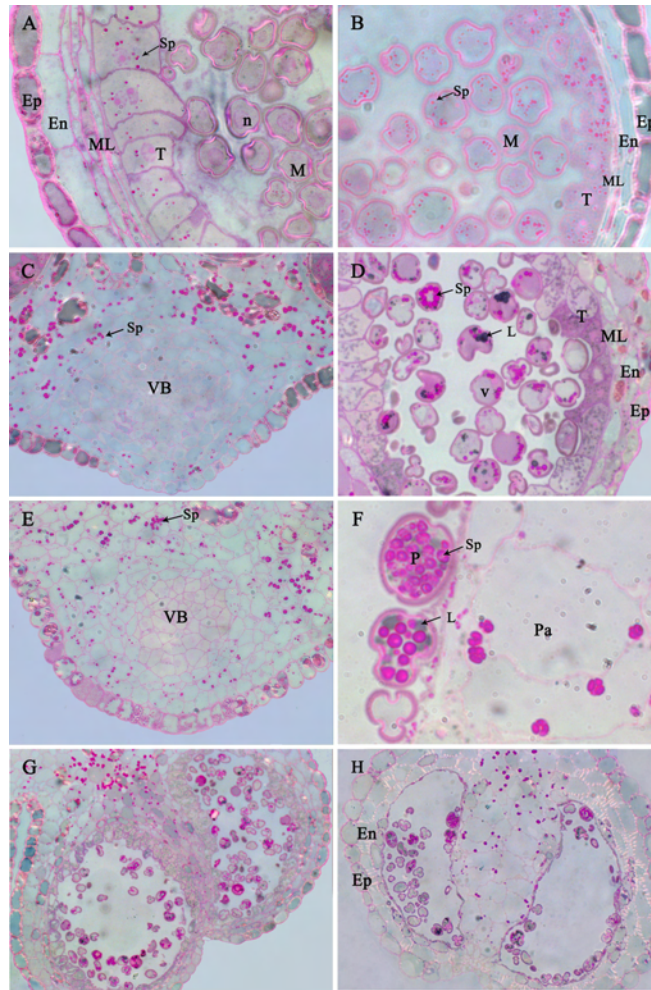
开花前一天,有很多花粉呈空腔状,没有花粉内含物,成为败育花粉。花粉败育现象发生在小孢子晚期,大多数花粉中没有积累淀粉多糖(图2G)。到开花时,药室中的大多数花粉败育,只有少数花粉中充满淀粉多糖(图2H)。花粉囊之间的药隔薄壁细胞膨大,将花粉囊挤压成半月形,薄壁细胞中仍有少量体积较大的淀粉多糖颗粒分布。花药壁中的绒毡层和中层细胞完全退化,成熟花药的药壁包括表皮和2层药室内壁细胞。药室内壁细胞出现径向和切向壁的加厚,且两花粉囊顶端处的药壁细胞较别处薄,为花粉开裂处(图2G和图2H)。

2.2 脂滴分布特征

2.2.1 造孢细胞至小孢子母细胞时期 在造孢细胞时期,造孢细胞和药壁细胞中都有少量脂滴分布(图1B)。到小孢子母细胞时期,小孢子母细胞细胞质中的脂滴较造孢细胞中有所增加。而药壁细胞中的脂滴消失(图1D)。药隔薄壁细胞中,有些细胞的细胞质被染为黑色,显示其中的脂质物质较丰富,但脂滴很少(图1C)。

2.2.2 四分体至小孢子时期 花药发育到四分体时期,整个花药细胞中均没有脂滴分布,但维管束周围的薄壁细胞中,有个别细胞呈现脂质物质较多的现象(图1E和图1F)。小孢子从四分体中释放后,早期小孢子的细胞质及药壁绒毡层、中层和药室内壁细胞中仍未积累脂滴,但表皮细胞质及一些药隔薄壁细胞被染为黑色,呈现含脂质物质较多的特征(图2A~图2C)。小孢子形成液泡后,晚期小孢子中除了出现淀粉多糖外,也开始积累脂滴,聚集呈块状。有些小孢子侵入绒毡层细胞内,其脂质性质的孢粉素外壁已形成(图2D)。药室内壁和中层细胞中有少量脂滴。绒毡层细胞的变化较大,细胞质内含物较多的细胞仍被染成红色,细胞质内含物较少的细胞没有被染成红色,而是出现一些黑色脂滴,呈现细胞中的糖类转移后,细胞内膜类细胞器降解为脂质物质的特征(图2D)。

2.2.3 二胞花粉至成熟花粉时期 在二胞花粉发育中,营养细胞中的脂块较小孢子晚期体积变小(图2F)。此时绒毡层细胞已退化,其内有较多的脂滴。表皮和个别药隔细胞被染为黑色,呈现含脂质物质较丰富的现象(图2G)。随着花药发育成熟,花粉粒中的脂滴没有明显变化,仍呈块状分布。药壁三层组织中没有脂滴分布(图2G和图2H)。



A: 胼胝质壁水解, 小孢子(M)从四分体释放出形成游离小孢子, 早期小孢子内没有淀粉和脂滴的积累; 药壁表皮细胞(Ep)和药室内壁(En)高度液泡化, 液泡周围的胞质中含少量淀粉多糖(Sp); 中层(ML)由4~5层细胞组成, 其内几乎不含淀粉多糖和脂滴; 绒毡层细胞(T)发育成熟, 其内开始出现淀粉多糖的积累。B: 随着小孢子的发育, 细胞质内开始积累淀粉多糖; 表皮和药室内壁没有明显变化, 中层细胞层数减少, 被压缩呈长条形; 绒毡层细胞形态发生变化, 淀粉积累明显增加。C: 维管束周围的薄壁细胞中积累大量淀粉多糖, 有些细胞质被染成黑色, 显示其脂质性质。D: 小孢子晚期花药中, 小孢子中形成一个大液泡(v), 其中出现淀粉多糖和大的脂块, 小孢子开始出现退化现象; 表皮、药室内壁和中层细胞液泡化明显, 细胞质中出现大颗粒淀粉的积累; 绒毡层细胞开始退化, 淀粉多糖消失, 出现脂滴。E: 维管束周围的薄壁细胞中仍积累大量淀粉多糖。F: 成熟花粉中充满着大颗粒淀粉多糖, 药隔薄壁细胞(Pa)中积累复合淀粉多糖。G: 二胞花粉早期, 仅有少量花粉中充满淀粉和脂滴, 多数花粉内营养物质自溶, 形成空腔, 发生败育; 药壁细胞没有明显变化, 绒毡层细胞中除了含有大量脂滴外, 也含有小颗粒的淀粉多糖, 维管束薄壁细胞中有大量淀粉多糖分布, 距离花粉囊越近淀粉多糖的颗粒越小, 在花粉囊相接的顶端花药壁明显变薄。H: 成熟花粉时期, 少数花粉发育为成熟花粉粒, 内含有大量淀粉和少量脂滴, 药室内壁由2层细胞组成, 出现径向壁和横向壁加厚, 绒毡层和中层细胞退化, 药隔明显加厚。En: 药室内壁; Ep: 表皮; L: 脂滴; M: 小孢子; ML: 中层; n: 细胞核; P: 花粉; Pa: 薄壁细胞; Sp: 淀粉多糖; T: 绒毡层; VB: 维管束; v: 液泡。A~E: 400 \times ; F: 1 000 \times ; G、H: 200 \times 。

A: the free microspores are released from callose walls. No starch and lipid droplet is in early microspores. Epidemis and endothecium cells remain high vacuolization, and little starch is present in cytoplasm. The middle layer is comprised of 4-5 layers cells. Some starch is visible in tapetum cells. B: starch grains begin to accumulate in cytoplasm during microspores development. No changes occur in epidemis and endothecium cells. The middle layer is compressed into narrow cell zone. Starch grains increase significantly in tapetum cells. C: a lot of starch grains are accumulated in the cytoplasm of parenchymatous cells. Some cells are dyed black. D: in late microspore stage anthers, a large vacuole occupies almost the entire cellular volume. Large size starch and lipid droplets appear in the vacuolated microspore cytoplasm. The microspores begin to degenerate. The large size starch grains are visible in epidemis, endothecium and middle layer cells. Tapetum cells begin to degenerate, and lipid droplets are filled with cytoplasm. E: plenty of starch grains are accumulated in the parenchyma cells at this stage. F: mature pollens are filled with starch grains. Compound starch grains are present in parenchymal cells. G: during the early bicellular stage, most pollens abortion occurs at this stage. A few of pollens are filled with starch grains and lipid droplets. No noticeable changes occur in anther wall cells. Amount of starch grains accumulate in parenchymal cells. H: at anthesis, a few of pollens develop into mature pollens and are filled with nutritional substances. The anther wall consists of epidemis and endothecium cells. Tapetum and middle layer cells completely degenerate, and endothecium cells undergo radial and inner tangential wall thickening. En: endothecium; Ep: epidemis; L: lipid droplet; M: microspore; ML: middle layer; n: nucleus; P: pollen; Pa: parenchymal cell; T: tapetum; VB: vascular bundle; v: vacuole. A-E: 400 \times ; F: 1 000 \times ; G,H: 200 \times .

图2 金丝桃小孢子早期到近开花期花药发育中多糖和脂滴的分布特征

Fig.2 Starch and lipid droplets distribution in microspores of *Hypericum monogynum* L. from the early microspore stage to anthesis

3 讨论

3.1 金丝桃花粉营养物质代谢特征

被子植物成熟花粉中积累大量的营养储存物,以淀粉和脂滴为主,供花粉萌发时利用^[13]。不同植物中,成熟花粉中营养物质积累类型各不相同,主要包括3类(淀粉粒、脂滴或二者兼具)。例如,中国鹅掌楸^[14]、芒果^[15]和小麦^[16]成熟花粉中仅积累淀粉粒;枸杞^[17]、凤仙花^[18]、油茶^[19]和蓖麻^[20]成熟花粉中积累淀粉和脂滴;白菜^[21]、水鬼蕉^[22]和巴戟天^[23]成熟花粉中仅积累脂滴。在对金丝桃花药发育观察中发现,小孢子中最先积累淀粉粒,但在以后的二胞花粉发育中脂滴也出现。成熟花粉积累大量淀粉和少量脂滴为营养储存物。这是金丝桃花粉中营养物质代谢的特征。

3.2 花药物质运输特征

花药中的营养物质代谢包括物质运输和物质转化两个环节。通常营养物质以多糖的形式由体内其他营养器官转运至花药供其吸收利用。在中国鹅掌楸^[14]、芒果^[15]和小麦^[16]花药发育中,药隔薄壁细胞和药壁细胞中都有淀粉粒积累。在白菜^[21]和枸杞^[17]花药发育中,药隔和药壁细胞中最先出现的也是淀粉粒。这些结果均表明,营养物质以多糖形式在植物体内进行运输^[24-25]。在本实验中,金丝桃花药从造孢细胞时期到成熟花粉时期,药隔薄壁细胞中均有较多的淀粉粒分布,且药隔维管束细胞被染为淡红色,显示了其多糖性质,暗示金丝桃体内营养物质以多糖的形式运入花药中。多糖由植物体其他营养器官转运到花药中,很可能是以质外体的导管运输方式转运到花药中。然而,花药维管束并不与药室直接相通。从维管束卸载的多糖物质必须通过药隔薄壁细胞之间的传递进入药室,供花粉吸收、利用。药隔薄壁细胞之间的多糖运输方式很可能是通过胞间连丝(共质体)进行传递的。花药中多糖的运输方式由质外体转变为共质体转运方式,这也是花药的一个物质转运特征。对于花药中营养物质的运输过程还未见有专门讨论。我们进行了大胆推测:导管通常是病毒在植物体内的主要传播途径。为了保护后代,花药维管束不与药室直接相通,避免病毒传递到花粉中,从而保护花粉正常发育。但为了适应花粉中需求大量营养物质的要求,体内向花药中运输营养物质的方式采用输送效率较高的导管(质外体)运输。当营养物质运输到花药后,运输方式发生转

变,药隔薄壁细胞采用胞间连丝的共质体方式进行糖类的转运。为弥补共质体的运输效率较低的缺陷,花药在很早就开始营养物质的转运,并将多糖物质以淀粉的形式储存在药隔细胞中。本文观察到造孢细胞时期的花药药隔细胞中就聚集了大量淀粉的现象,是该推测的一个证据。

3.3 花药物质转化特征

有些植物的花粉储存物全部是脂滴或部分为脂滴,这类植物的花粉中营养物质代谢有一个糖转化为脂的过程。糖类和脂滴可以相互转化。不同植物中,花粉营养物质的转化过程有所不同。中国鹅掌楸^[14]、芒果^[15]和小麦^[16]的成熟花粉中只含有淀粉粒,表明营养物质以多糖的形式直接转运到花粉储存,未涉及糖和脂之间的转化。白菜^[21]和水鬼蕉^[22]的成熟花粉中只积累脂滴作为营养物质,显然花粉中的脂滴是由糖类物质转化而来。在白菜^[20]和枸杞^[17]花药发育中,药隔和药壁外三层组织中最先出现的是淀粉粒,绒毡层细胞中则没有淀粉粒出现,而有大量脂滴的积累,暗示是绒毡层细胞将多糖类物质转化为脂滴供花粉吸收利用。但在水鬼蕉^[22]中,小孢子母细胞中就聚集了大量的脂滴,这种富含脂滴的状态一直保持到花粉成熟。显然是小孢子母细胞和以后的花粉将糖类转化为脂滴。这三种植物的脂质代谢特征在时间和空间上有很大不同。也有些植物的成熟花粉中既含淀粉,又含脂滴。这类植物花粉中的物质转化特征又有不同。在砂仁^[26]和巴戟天^[23]花粉发育中,花粉中最先积累淀粉粒,但到花粉接近成熟时出现脂滴,表明二胞花粉具有将糖类转化为脂滴的功能。枸杞^[17]花粉发育到二胞时期,先积累脂滴,后出现淀粉多糖,意味着二胞花粉中发生了将脂滴转化为糖类的代谢过程。而油茶^[19]花粉将脂滴转化为糖类物质的过程则又发生在小孢子时期。上述结果表明,在不同植物中花粉发育中的物质代谢具有时、空多样性,需广泛研究各类植物花药发育的物质代谢特征。

在本研究中,金丝桃花粉中最先出现的营养物质是在早期小孢子中出现淀粉多糖。在相应的绒毡层细胞中也有淀粉积累。随着花药的发育,含淀粉的小孢子中出现了脂滴,而相应的退化绒毡层细胞中糖类减少,出现了脂滴。最后,在成熟花粉中积累了较多的淀粉和较少的脂滴作为储存物。金丝桃花粉中储存物的积累与绒毡层细胞中的糖类和脂滴出

现时间一致, 不排除花粉直接吸收绒毡层提供的糖类和脂滴物质。这提示, 物质的转化过程发生在绒毡层细胞中, 而非花粉细胞。这与砂仁^[26]、白菜^[21]和巴戟天^[23]花粉将多糖转化为脂滴不同, 与枸杞^[17]和油茶^[19]花粉将脂滴转化为多糖也不相同。这是金丝桃花粉代谢的特征。

参考文献 (References)

- Cheung AY, Wu HM. Structural and functional compartmentalization in pollen tubes. *J Exp Bot* 2007; 58(1): 75-82.
- Datta R, Chamusco KC, Chourey PS. Starch biosynthesis during pollen maturation is associated with altered patterns of gene expression in maize. *Plant Physiol* 2002; 130(4): 1645-56.
- Ku S, Yoon H, Su HS, Chung YY. Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum. *Planta* 2003; 217(4): 559-65.
- Xie CT, Yang YH, Zhu XY, Tian HQ. Cytochemical investigation of genic male-sterility in Chinese cabbage. *Sex Plant Reprod* 2005; 18(2): 75-80.
- Castro AJ, Clement C. Sucrose and starch catabolism in the anther of *Lilium* during its development: A comparative study among the anther wall, locular fluid and microspore/pollen fractions. *Planta* 2007; 225(6): 1573-82.
- Kurusu T, Koyano T, Hanamata S, Kubo T, Noguchi Y, Yagi C, et al. OsATG7 is required for autophagy-dependent lipid metabolism in rice postmeiotic anther development. *Autophagy* 2014; 10(5): 878-88.
- Park SK, Twell D. Novel patterns of ectopic cell plate growth and lipid body distribution in the *Arabidopsis gemini* pollen 1 mutant. *Plant Physiol* 2001; 126(2): 899-909.
- Dinis AM, Mesquita JF. Ultrastructural and cytochemical evidence for the presence of peroxisomes in the generative cell of *Magnolia × soulangeana* pollen grain. *Ann Bot* 1994; 73(1): 83-90.
- Dinis AM, Santos Dias JD, Mesquita JF. Ultrastructure of the mature pollen of *Michelia figo* (Lour.) Spreng (Magnoliaceae). *J Submicrosc Cytol Pathol* 2000; 32(4): 591-601.
- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 李锡文. 藤黄科, 柃柳科, 龙脑香科. 北京: 科学出版社, 1990, 50(2): 12.
- 崔艳红, 李晶. 金丝桃属植物研究进展及黑龙江省的资源概况. 东北农业大学学报(Cui Yanhong, Li Jing. Research advances on *Hypericum* Linn and resources in Heilongjiang Province and its utilizing prospect. *Journal of Northeast Agricultural University*) 2006; 37(1): 105-10.
- 吕洪飞, 初庆刚, 胡正海. 金丝桃属植物的化学成分研究进展. 中草药(Lü Hongfei, Chu Qinggang, Hu Zhenghai. Advances in study on chemical constituents in *Hypericum* Linn. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*) 2002; 33(12): 1135-8.
- Pacini E. Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. *Sex Plant Reprod* 1996; 9(6): 362-6.
- 尹增芳, 樊汝汶. 中国鹅掌楸小孢子发生的细胞化学研究. 植物学通报(Yin Zengfang, Fan Ruwen. Cytochemical study on the microsporogenesis of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. *Chinese Bulletin of Botany*) 1998; 15(3): 34-7.
- 马燕, 邓伟, 田惠桥. 芒果花药发育的细胞化学研究. 广西植物(Ma Yan, Deng Wei, Tian Huiqiao. Cytochemical study on the developing anthers of *Mangifera indica*. *Guihaia*) 2011; 31(3): 338-41.
- 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. 作物学报(Li Dongxiao, Li Jin, Feng Suwei, Ru Zhenggang. Cytochemical observation of fertile and sterile anthers of thermo-sensitive genic male-sterile wheat. *Acta Agronomica Sinica*) 2013; 39(5): 878-84.
- 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. 分子生物学学报(Xu Qing, Wang Xianqin, Tian Huiqiao. The features of distribution of polysaccharide and lipid in the developing anther of *Lycium barbarum* L. *Journal of Molecular Cell Biology*) 2006; 39(2): 103-10.
- 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. 西北植物学报(Yang Shujuan, Wei Dongmei, Cheng Cheng, Song Tiedan, Tian Huiqiao. Histochemical study of polysaccharides and lipids on the developing anthers of *Impatiens balsamina*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*) 2013; 33(9): 1786-91.
- 魏冬梅, 高超, 袁德义. 油茶花药发育中多糖和脂滴组织化学研究. 中国细胞生物学学报(Wei Dongmei, Gao Chao, Yuan Deyi. Histochemical study of polysaccharides and lipids on the developing anthers of *Camellia oleifera* Abel. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(11): 1598-602.
- 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. 实验生物学报(Xie Chaotian, Yang Yanhong, Zhu Xueyi, Tian Huiqiao. The cytochemical observation of anthers of *Chinese cabbage's* male-sterile. *Acta Biologicae Experimentalis Sinica*) 2004; 37(4): 295-302.
- 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. 植物生理学报(Bao Han, Song Yuyan, Ma Yan, Tian Huiqiao. Histochemical observation of polysaccharide and lipid on the developing anthers of *Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Rome. *Plant Physiology Journal*) 2011; 47(6): 565-9.
- 郑松, 魏冬梅, 林美珍, 田惠桥. 巴戟天花药发育过程中多糖和脂滴的分布特征. 植物生理学通讯(Zheng Song, Wei Dongmei, Lin Meizhen, Tian Huiqiao. Distribution feature of polysaccharides and lipids in the developing anthers of *Morinda officinalis* How. *Plant Physiology Communications*) 2010; 46(3): 231-5.
- Ekici N, Dane F. Some histochemical features of anther wall of *Leucjum aestivum* (Amaryllidaceae) during pollen development. *Biologia* 2012; 67(5): 857-66.
- Konyar ST, Dane F, Tutuncu S. Distribution of insoluble polysaccharides, neutral lipids, and proteins in the developing anthers of *Campsis radicans* (L.) Seem (Bignoniaceae). *Plant Syst Evol* 2013; 299(4): 743-60.
- Lin MZ, Zhu Y, Yang SJ, Wei DM, Tian HQ. Cytochemical study of developing anthers of *Amomum villosum* Lour. *Flora* 2014; 209(10): 567-70.
- Wei DM, Xu HM, Li RL. Dynamics of polysaccharides and neutral lipids during anther development in castor (*Ricinus communis*). *J Amer Soc Hort Sci* 2015; 140(4): 356-61.

用严谨的科学维护生命的价值

精准免疫治疗 创新和实践者

基因测序

个性化免疫
细胞制备技术

CTC/CTSC
疗效评估体系



ISO9001质量体系认证



北京赛傲生物科技有限公司	地址: 北京市昌平区科技园区超前路甲1号12号楼1层101室	电话: 010-84622613
上海赛傲生物科技有限公司	地址: 上海市普陀区中江路879弄2号楼301室	电话: 021-52685012
广州赛傲生物科技有限公司	地址: 广州市珠海区滨江东路191号金海湾A座303室	电话: 020-89221589/99
重庆赛傲生物科技有限公司	地址: 重庆市大渡口区建桥产业园C区26栋3层	



ISSN 1674-7666



国内统一刊号: CN 31-2035/Q 本期定价: 60.00元
国外代号: M5898 邮发代号: 4-296 全年定价: 720.00元