



华夏英才基金学术文库

林金星 胡玉熹 吴 鸿 编著

裸子植物花粉生物学



科学出版社



华夏英才基金学术文库

裸子植物花粉生物学

The Biology of Pollen in Gymnosperms

林金星 胡玉熹 吴 鸿 编著



科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书汇集了我单位数十年来有关裸子植物花粉生物学领域所取得的大量科研成果,同时综述了近年来国内外有关裸子植物花粉生物学方面的重要研究报道。全书共分10章,前4章为裸子植物各类群的小孢子囊结构与发育、花粉发育及传粉过程的详细记述;第五章是以现存国产裸子植物12科36属和近百种植物花粉形态与微观结构特征的描述;第六章表述了松杉类植物的传粉机制与传粉过程;第七章分别讨论了几种松杉类植物花粉的外壁和原生质体分离过程,花粉脱壁后的细胞学特征;第八章和第九章详细阐述了几种松杉类植物花粉萌发与花粉管结构、花粉管极性生长模式的调控等;第十章简要介绍了花粉的保存、生活力测定与利用等内容。在各章节中分别配有大量的精美线图和黑白图版及书后的彩色图版,每章末尾还附有国内外的重要参考文献。

本书可供林业、地质和考古等生产、科研与教学部门,以及从事植物遗传育种学、植物生殖生物学、孢粉学、细胞生物学、植物分类与系统学、古植物学等科技、教学人员和学生等学习与参考。

图书在版编目(CIP)数据

裸子植物花粉生物学/林金星,胡玉熹,吴鸿编著. —北京:科学出版社,2013.7
(华夏英才基金学术文库)

ISBN 978-7-03-037659-6

I. ①裸… II. ①林… ②胡… ③吴… III. ①裸子植物亚门-花粉
IV. ①Q949.604

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 116684 号

责任编辑:罗 静 付 聪 / 责任校对:彭 涛

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年7月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013年7月第一次印刷 印张:15 3/4 插页:12

字数:371 000

定价:80.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

在现今地球上,裸子植物的种类虽然不足千种,但它们在陆地上占有的森林覆盖率达 50% 以上,其中许多树种又是林业生产中的重要用材资源树种,因此,裸子植物对人类的生存和国民经济建设等方面,均起着十分重要的作用。我国现存裸子植物种类极其丰富,约占全世界所有种类的一半左右。其中,银杏、银杉、水杉、水松、金钱松、台湾杉、白豆杉和福建柏等为我国特有的珍稀濒危树种或驰名中外的活化石。

半个多世纪以来,中国科学院植物研究所的王伏雄院士和他带领的研究团队,在我国裸子植物花粉和生殖生物学方面开展了大量的研究工作,并积累了丰富的研究成果。近年来,随着生物科学技术的迅猛发展及各种新型仪器的广泛应用,我们在以往研究工作的基础上,对裸子植物松杉类花粉与花粉管的细胞生物学、传粉生物学和花粉原生质的分离等进行了深入细致的研究,现已取得了不少新的研究成果。

花粉是种子植物特有的雄性生殖结构。在植物有性生殖过程中,花粉作为雄性生殖单位的载体,起着传送精子和雄性遗传物质的重要作用。有关花粉生物学的研究,是当今生命科学研究领域中的热点之一。以往国内外学者大多只注重被子植物花粉生物学方面的研究,而对裸子植物的报道甚少。《裸子植物花粉生物学》一书,以中国科学院植物研究所多年来对本国裸子植物花粉生物学研究积累的成果为主,并整合了国内外的相关资料和最新的研究进展,本书的编写弥补了该领域的缺陷与空白。

本书共分 10 章,第一章至第四章为裸子植物各类群小孢子囊结构与发育、小孢子发生及雄配子体发育等过程的详细记述。第五章是以国产裸子植物为主,分别对现存裸子植物各类群,其中包括 12 科 36 属和近百种植物花粉形态与结构特征的描述,以及对花粉形态类型的划分,化石和现存裸子植物花粉形态特征多样性的讨论。第六章为裸子植物松杉类的传粉机制类型划分,传粉机制的演化,以及白皮松、侧柏、北美香柏、红豆杉和粗榧等几种松杉类植物传粉过程的简述。第七章分别讨论了几种松杉类植物花粉的外壁和原生质体分离过程及花粉脱壁后的细胞学特征。第八章和第九章详细阐述了几种松杉类植物花粉的萌发与花粉管的结构、细胞骨架的动态变化、花粉管生长过程与调控机制等。第十章是对花粉生活力的测定、保存与利用等内容的简单介绍。在各个章节中分别配有大量精美的线图和黑白图版,以及少量的彩色图片,另外在每章的末尾还附有国内外重要参考文献。

本书的编撰过程中,得到了国内一些专家的通力合作与帮助。在向华夏英才基金申请出版经费时,中国科学院植物研究所匡廷云院士、方精云院士,以及中国科学院京区党委统战部等给予了热情鼓励和大力推荐,在此一并表示衷心的感谢。

林金星 胡玉熹

2011 年 5 月于北京香山

目 录

前言

第一章 苏铁类植物小孢子囊与花粉发育及传粉	1
第一节 小孢子叶球	1
一、小孢子叶的结构与发育	2
二、小孢子囊的结构与发育	3
三、绒毡层的细胞特征	4
第二节 雄配子体发育	5
一、小孢子发生	5
二、小孢子发育	7
三、花粉形态与结构	8
第三节 传粉过程	10
一、花粉管的生长	10
二、精细胞的发生	10
第四节 传粉机制	11
参考文献	13
第二章 银杏小孢子囊与花粉发育及传粉	17
第一节 小孢子叶球的形态与发育	17
第二节 小孢子囊的发育	19
第三节 花粉的个体发育	23
第四节 传粉过程与传粉机制	26
第五节 精细胞的形成与结构特征	30
第六节 银杏花粉的离体培养	32
参考文献	33
第三章 松杉类植物小孢子囊与花粉发育	36
第一节 小孢子囊的结构与发育	36
一、小孢子囊的发育	36
二、小孢子囊壁发育过程中淀粉粒的动态分布	40
三、雄性不育株中小孢子囊的结构变异	42
第二节 绒毡层的结构与发育	43
一、绒毡层的类型	43
二、绒毡层的结构与发育	43
第三节 绒毡层的生理功能	45
一、绒毡层为小孢子发育供应营养物质和孢粉素	45

二、绒毡层和小孢子发育过程中钙离子的变化	47
第四节 减数分裂	48
一、减数分裂进程	49
二、减数分裂过程中染色体的构型	49
三、减数分裂过程中染色体的异常分裂现象	50
四、减数分裂过程中细胞质的变化	51
五、减数分裂过程中胼胝质的变化	52
第五节 花粉的发育	52
一、松科	54
二、杉科	57
三、松杉类其他各科植物	59
第六节 雄配子体的发育	61
一、精原细胞的形成和超微结构	62
二、精细胞的形成及其细胞质的特点	63
参考文献	65
第四章 盖子植物类的小孢子囊与花粉发育及传粉	70
第一节 麻黄科	71
一、雄球花的发育与小孢子的发生	71
二、聚合囊的发育与表面结构	74
三、小孢子的发生	75
四、雄配子体的发育	77
五、传粉过程	77
第二节 买麻藤科	82
一、雄球花与雄性生殖单位的发育	82
二、小孢子囊与小孢子的发育	83
三、雄配子体的发育	84
四、传粉过程	85
第三节 百岁兰科	87
一、雄球花与雄性生殖单位的发育	87
二、小孢子囊与雄配子体的发育	89
三、传粉过程	89
参考文献	90
第五章 裸子植物花粉形态与结构	94
第一节 裸子植物花粉形态类型的划分	94
第二节 现存裸子植物各科的花粉形态与结构	95
一、苏铁科	95
二、银杏科	97
三、南洋杉科	99

四、松科	101
五、杉科	108
六、柏科	112
七、罗汉松科	114
八、三尖杉科	117
九、红豆杉科	122
十、麻黄科	125
十一、买麻藤科	131
十二、百岁兰科	134
第三节 化石与现存裸子植物花粉形态特征的多样性	135
一、花粉单位	136
二、花粉萌发孔	136
三、花粉的形状与大小	136
四、花粉的表面纹饰	137
五、花粉的外壁结构	137
六、具气囊花粉	137
参考文献	138
第六章 松杉类植物的传粉机制	143
第一节 胚珠分泌物和传粉滴	143
一、胚珠分泌物与传粉滴的产生	143
二、传粉滴的化学成分	146
三、传粉滴的收缩机制	148
四、胚珠分泌物在生殖过程中的作用	149
第二节 传粉机制的类型	150
一、花粉无气囊,具传粉滴,胚珠直立或无特定方向	151
二、具气囊花粉,传粉滴,胚珠倒生	151
三、具气囊花粉,无传粉滴或传粉滴不从珠孔处溢出,胚珠倒生	152
四、花粉不具气囊,胚珠分泌少量传粉滴	153
五、花粉无气囊,胚珠不产生传粉滴,花粉在胚珠外萌发形成花粉管	153
第三节 传粉机制的演化	154
第四节 几种松杉类植物的传粉过程	155
一、松科白皮松的传粉过程	155
二、柏科侧柏和北美香柏的传粉过程	156
三、红豆杉科红豆杉和三尖杉科粗榧的传粉过程	158
参考文献	160
第七章 松杉类植物花粉脱壁和原生质体分离	164
第一节 花粉外壁的分离	164
一、水合法	164

二、酶解法	165
第二节 花粉原生质体的分离	166
一、一步酶解法	166
二、两步酶解法	169
第三节 脱壁花粉的细胞学特征	170
一、脱外壁花粉表面纤维素的分布	171
二、脱外壁花粉表面果胶质的分布	171
三、脱外壁花粉表面胼胝质的分布	172
四、脱外壁花粉表面阿拉伯半乳糖的分布	172
五、凝集素结合位点在脱外壁花粉表面的表达	172
六、花粉内壁成分的傅立叶变换红外光谱分析	174
参考文献	176
第八章 花粉萌发和花粉管结构	179
第一节 花粉萌发	179
一、体内萌发	179
二、离体萌发	179
第二节 花粉管的结构	183
一、花粉管的分区	183
二、花粉管壁的结构与化学成分	185
三、花粉管的细胞骨架	189
参考文献	193
第九章 花粉管极性生长模式的调控	196
第一节 花粉管生长过程中的胞质环流	196
第二节 花粉管的囊泡运转	197
第三节 花粉管顶端胞吞与胞吐的动态与调控	204
第四节 花粉管中线粒体的形态及其运动	208
第五节 花粉管生长过程中蛋白质的代谢	213
一、蛋白质合成	213
二、蛋白质的选择性降解	215
三、蛋白质组研究	221
参考文献	224
第十章 花粉的保存、生活力测定与利用	228
第一节 花粉的采集与保存	228
一、花粉的散落与产量	228
二、花粉的采集	229
三、花粉的保存	230
第二节 花粉的生活力	232
一、花粉生活力的表述	232

二、花粉生活力的测定	233
第三节 花粉的成分与利用.....	237
一、花粉的化学成分	237
二、花粉的营养成分	238
参考文献.....	238

图版

第一章 苏铁类植物小孢子囊与花粉发育及传粉

苏铁类植物是现存种子植物中最古老的类群之一,其起源至少可追溯到 3.2 亿年前的古生代石炭纪,并繁盛于中生代侏罗纪,至白垩纪晚期才逐渐衰退。全世界现存苏铁类植物的数量极为稀少,仅有苏铁科(Cycadaceae)、蕨铁科(Stangeriaceae)和泽米铁科(Zamiaceae) 3 科 11 属,约 305 种,零星分布于热带亚热带地区(Stevenson, 1992)。其中,苏铁科的苏铁属(*Cycas*)在亚洲、大洋洲、非洲(东部地区和马达加斯加)及太平洋岛屿均有分布,而其他 10 属都严格地分布于单独的陆块,如蕨铁科的蕨铁属(*Stangeria*)和泽米铁科的大头苏铁属(*Encephalartos*)分布于非洲;蕨铁科的莲铁属(*Bowenia*)、泽米铁科的鳞苏铁属(*Lepidozamia*)和叠鳞苏铁属(*Macrozamia*)分布于澳大利亚;泽米铁科的奇寡铁属(*Chigua*)、角铁属(*Ceratozamia*)、多脉苏铁属(*Dioon*)、小苏铁属(*Microcycas*)和大苏铁属(泽米属)(*Zamia*)分布于北美(南部)、中美洲的热带亚热带地区(Walters and Osborne, 2004)。古植物学的研究表明,现存苏铁类植物的世界分布格局表明它们可能是中生代许多地方较大的苏铁群落遗留下来的。历经上亿年的沧桑变化,这些孑遗植物仍保留着其祖先的原始特征,如具鞭毛且可游动的精细胞(Ikeno, 1896; Webber, 1901; Chamberlain, 1909; Norstog, 1990)。

早在 1896 年,Ikeno 最先观察到苏铁(*Cycas revoluta*)的精细胞具有鞭毛且可游动,与蕨类植物极为相似。这一发现曾引起当时植物学界对苏铁类植物的高度关注,同时,植物学家也对苏铁类植物的生殖发育及生活史进行了大量研究。迄今历经了一个多世纪的研究,发现苏铁类植物的雄性生殖结构在其他方面亦表现出明显的原始性,如小孢子叶发生、花粉结构、花粉管生长样式和精细胞形成等。这些原始特征不仅为阐明苏铁类植物的系统学地位提供了证据,而且也为进一步探讨种子植物生殖系统的演化提供了参考。

第一节 小孢子叶球

苏铁类植物均为雌雄异株,即产生花粉的小孢子叶球(雄球花)和形成种子的大孢子叶球分别着生于不同的植株上。苏铁类植物茎的顶端具营养叶和鳞叶,每形成一轮营养叶,接着产生一轮坚硬的鳞叶,两种叶呈环状交互排列,随后植株进入可育枝分化,萌发小孢子叶球。大多数种类的苏铁类植物小孢子叶球呈有限生长的球果状,并着生在茎的顶端(图 1-1a),仅莲铁属、叠鳞苏铁属和大头苏铁属的某些种类具腋生或侧生的小孢子叶球。苏铁属、角铁属、多脉苏铁属、鳞苏铁属、小苏铁属和蕨铁属等一般每株着生一个小孢子叶球,偶尔也出现两个小孢子叶球着生在同一植株的茎顶端。苏铁属中甚至有产生多达 13 个雄球花的“多头苏铁”。另外,莲铁属、奇寡铁属、大头苏铁属、叠鳞苏铁属和大苏铁属等植物在同一生殖周期中,每株都会产生多个小孢子叶球。小孢子叶球具柄,为圆柱状、狭圆柱状,或纺锤状,不同种之间小孢子叶球的大小差异较大,其长度为 5~80 cm。

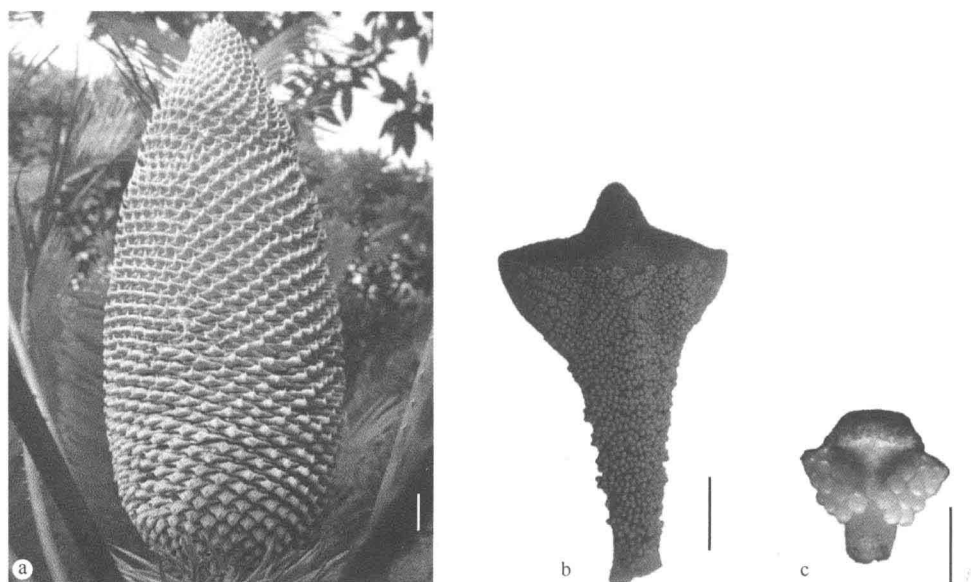


图 1-1 苏铁类植物小孢子叶球(a)与小孢子叶(b, c)的外部形态(另见图版)

a, b. 越南篦齿苏铁(*Cycas elongata*); c. *Zamia amblyphyllidia* (比例尺: a=2 cm; b, c=5 mm)

其中,鳞苏铁属的小孢子叶球是苏铁类植物中最大的,长度竟达 80 cm。小孢子叶以螺旋状向顶的生长方式紧密排列在小孢子叶球轴上。至散粉时,小孢子叶的排列常变得疏松。

一、小孢子叶的结构与发育

苏铁类植物的小孢子叶虽然在大小形状上各有不同,但均具相当厚的鳞片状构造,在其远轴面上着生有数量不等的小孢子囊,而且由 2~5 个小孢子囊合生为一个聚合囊。不同属的小孢子叶着生的小孢子囊数目也有较大差异。苏铁属的小孢子叶远轴面几乎被小孢子囊覆盖,每片小孢子叶的小孢子囊多达上千个(图 1-1b),而大苏铁属等属植物的小孢子囊只着生在小孢子叶远轴面的两侧区域,数量也较少,仅数十个(图 1-1c)。

苏铁类植物的小孢子叶结构似乎较为简单,以往很少有人将其形态特征用于这类植物的系统学研究。因此,在 20 世纪对苏铁类植物小孢子叶的发育一直缺乏足够的关注。直到 2003 年, Mundry 和 Stützel 对 *Zamia amblyphyllidia* 小孢子叶的形态发生进行了系统研究,特别是应用扫描电子显微镜观察了其形态发生过程,发现小孢子叶球基部形成一短柄,而幼嫩的小孢子叶球顶端产生椭圆形的小孢子叶原基。随着小孢子叶球的伸长,小孢子叶原基的顶端变得扁平,呈多菱形,且密被绒毛。在小孢子叶原基接近基部的区域,分化出两侧对称的扁平突起,在两个突起之间是小孢子叶的不育柄。此时,小孢子叶原基只有一条由小孢子叶球轴的维管束分化而来的主维管束,并继续向着小孢子叶顶端分化。随着小孢子叶原基的进一步发育,在基部两个突起的远轴面开始分化出 3~4 个聚合囊原基。聚合囊原基首先出现在突起靠近小孢子叶不育柄的位置,然后向着小孢子叶边缘继续分化。从小孢子叶原基的横切片观察,聚合囊原基起源于皮下细胞。较早分化

的聚合囊原基逐渐由圆球状变为直径更大的长椭圆形,并在两端生长膨大,而中间部位发育较慢,最终使聚合囊原基形成两个分叉,每个叉即为一小孢子囊。两叉之间形成聚合囊柄。

此前,多数人认为苏铁类植物的小孢子叶可能是退化的单叶,而非羽状叶,其中小孢子囊几乎占据整个小孢子叶远轴面,如苏铁属、大头苏铁属和蕨铁属,或小孢子叶远轴面有不育线将小孢子囊分成两块(Gifford and Foster, 1989; Stewart and Rothwell, 1993)。但从 *Zamia amblyphyllidia* 的小孢子叶发生及发育过程看,小孢子叶柄侧生两个背腹面扁平的突起与羽状孢子叶的退化小叶具有同源性,而所谓的“中间不育线”(即小孢子叶柄)与羽叶的叶轴同源,说明大苏铁属植物的小孢子叶是退化的羽状叶,而并非单叶,聚合囊着生的位置为退化小叶的远轴面;同时小孢子叶的发育样式与向基形成小叶的羽状叶有较多相似性。虽然依据苏铁类植物小孢子叶的发生或许能为探讨该类群植物的起源提供新的契机,然而遗憾的是,迄今为止尚缺乏苏铁类植物中其他各类群的相关研究资料(Mundry and Stützel, 2003)。

二、小孢子囊的结构与发育

苏铁类植物的成熟小孢子囊为典型的厚孢子囊,起源于小孢子叶远轴面的皮下细胞。早在 1897 年,Lang 对苏铁小孢子囊的研究认为,其起源于多个孢原细胞;但 Smith (1907)通过对大苏铁(*Zamia floridana*)的深入研究证实,小孢子囊的起源是在小孢子叶远轴面皮下细胞中的单个孢原细胞。在大苏铁中,孢原细胞通常进行第一次垂周分裂,形成 2 个子细胞,其中一个变得更大,并先行再次垂周分裂,紧接着另一个子细胞再次垂周分裂,最终形成 4 个细胞。4 个细胞进行平周分裂,形成内外层各 4 个细胞,外层细胞分化为初生壁细胞,内层为初生造孢细胞。初生壁细胞经过一系列平周分裂和垂周分裂,形成 3~5 层的孢子囊壁。与此同时,初生造孢细胞也进一步分裂产生次生造孢组织。次生造孢组织最终分化为成熟的造孢组织,其中,外围 1~2 层造孢细胞分化为绒毡层。因此,成熟的小孢子囊壁有 4~7 层细胞厚,包括表皮、中层薄壁细胞和绒毡层。苏铁属植物的小孢子囊壁表皮细胞至次生造孢细胞分化为成熟造孢组织时,其径向壁和内切向壁开始次生加厚,小孢子囊顶部的表皮细胞同时呈径向延长(图 1-2a)(欧阳海波等, 2004; 张花粉, 2007)。角铁属和大苏铁属的小孢子囊表皮细胞在四分体小孢子形成后开始壁的次生加厚,其中,大苏铁属植物的孢子囊表皮细胞壁加厚是沿着孢子囊脊发展的,孢子囊脊的表皮细胞首先出现细胞壁的木质化加厚,细胞变得更圆且狭窄,直至细胞腔近乎消失。在加厚的表皮细胞之间,有一群小的细胞形成内陷,即小孢子囊的开裂线,从横切面上看,开裂线细胞的壁较其他表皮细胞的壁薄,以利于散粉时开裂(Smith, 1907)。

在表皮层以下数层细胞是厚的中层部分。中层细胞在表皮与绒毡层之间,其细胞壁较薄,液泡大,细胞质稀少。如在越南篦齿苏铁中,随着造孢细胞数目的增多和体积的增大,中层细胞被挤压而变得扁平,并在小孢子母细胞(PMCs)以后的发育过程中被挤压成长条形,且由内向外逐渐被吸收和解体,直至小孢子第一次有丝分裂时,已被挤压成一薄层,并紧贴表皮内侧。当小孢子进行有丝分裂形成成熟的花粉以后,中层则被挤毁而仅存残迹。在花粉成熟时,小孢子囊壁几乎只剩下高度木质化的表皮层(欧阳海波等, 2004)。

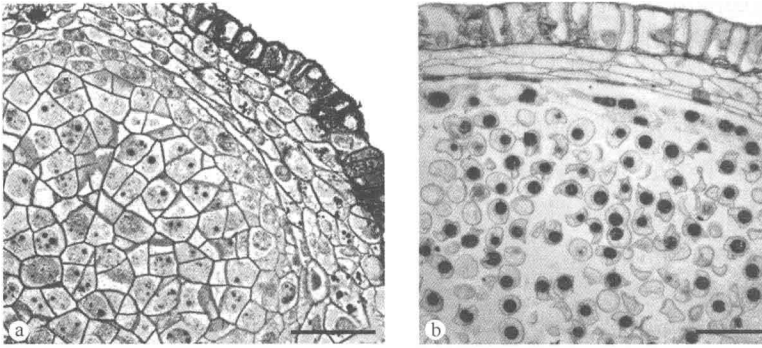


图 1-2 德保苏铁(*Cycas debaoensis*)小孢子囊部分结构(另见图版)

a. 成熟造孢组织时期; b. 小孢子游离期(比例尺=20 μm)(引自张花粉, 2007)

绒毡层为小孢子囊壁的最内层,包围着造孢组织。一般苏铁类植物的绒毡层分化出现在小孢子囊壁其他部分分化完全之后,因此绒毡层应是由成熟造孢组织的外围细胞分化而来(图 1-2a)。在苏铁属中,随着小孢子母细胞的进一步发育,绒毡层细胞的细胞质变得浓厚,细胞核较大。由于小孢子囊内部的压力增大,使得绒毡层细胞或多或少呈扁平形,细胞核也随之延长(图 1-2a)。至减数分裂 I 末期,绒毡层细胞核进行分裂形成双核细胞。小孢子母细胞减数分裂结束后,绒毡层细胞逐渐解体,至小孢子液泡化时,绒毡层细胞仅残留一些痕迹(图 1-2b)(欧阳海波等, 2004; 张花粉, 2007)。

三、绒毡层的细胞特征

绒毡层细胞是小孢子囊壁最内一至数层细胞,并包围着一团造孢组织。从小孢子囊壁的发育来看,绒毡层细胞是由造孢组织的外围细胞分化而来,具有花粉母细胞向周边细胞过渡的特征(Smith, 1907; Rao, 1961; Audran, 1981; 吴先军等, 1995; 欧阳海波等, 2004)。通常苏铁类植物的绒毡层由 1~3 层细胞组成(Smith, 1907; Audran, 1981; 欧阳海波等, 2004),偶尔在小孢子囊基部的一侧,由于部分造孢细胞不育而转化为绒毡层细胞,可使绒毡层细胞多达 4~5 层。

绒毡层对于花粉发育具有重要的生理学意义,它是小孢子发育的营养源,也为小孢子外壁形成提供物质原料,同时还参与花粉外壁含油层沉积物质的合成和释放(Audran, 1981)。对于苏铁类植物绒毡层与小孢子发育的关系研究历史悠久,但多限于光学显微镜下的观察(Juraui, 1872; Treub, 1881; Chamberlain, 1935; Baird, 1939)。Audran (1981)对墨西哥角铁(*Ceratozamia mexicana*)小孢子发育期间绒毡层的超微结构进行了观察,发现在小孢子母细胞分裂前,绒毡层细胞分化的基本特征为:对糖测定反应的活性降低,核糖体数增加,线粒体碎裂;合成淀粉粒的质体延长,细胞内脂质小滴全部消失。当小孢子母细胞进入细线期时,绒毡层细胞发生有丝分裂,但由于新形成的细胞板溶解,从而形成双核绒毡层细胞,细胞形状也变大延长,且粗糙型内质网大量增加。在二分体和四分体早期阶段,绒毡层细胞的高尔基体活性开始加强,高尔基小泡形成大的小泡,并沿胞间连丝形成微粒前体——致密的嗜钨小球。在四分体时期,高尔基体活性继续增强,丰富

的高尔基体小泡在细胞核之间的核周质中堆积。当高尔基体的代谢产物发生改变后,高尔基体小泡大量减少,同时绒毡层细胞产生大量的脂质小滴。脂质小滴从细胞中释放出来后向着胞间连丝移动,进入细胞质外,并与脂类物质聚集形成脂质团。这种脂质团很快消失,继而微粒前体的数量增加。微粒前体表面沉积一层薄薄的孢粉素后形成微粒。小孢子从四分体释放出来至其液泡化阶段,绒毡层细胞在其核周边形成大液泡,液泡在增加的同时,也通过自体吞噬作用,破坏大量线粒体和内质网,但质体未受破坏,能合成小的淀粉颗粒。此时,绒毡层细胞逐渐消失,微粒增加。直至小孢子有丝分裂和花粉成熟阶段,绒毡层细胞的原生质进一步降解,微粒体的原始脂质小球消失,孢粉素的厚度增加。

在苏铁类植物中,由造孢组织外围细胞分化的绒毡层细胞具有孢粉素生物合成的能力,小孢子外壁孢粉素的前脂体产生于造孢细胞早期合成的脂质堆,而绒毡层细胞的脂质孢粉素前体起源于高尔基体-内质网合成和线粒体-质体降解新形成的脂肪体。孢粉素前体可能是从绒毡层细胞渗出,并在外壁上沉积之前进入小孢子细胞质中参与代谢(Audran, 1981)。

第二节 雄配子体发育

一、小孢子发生

苏铁类植物的小孢子发生过程基本相似(Smith, 1907; Baird, 1939; Rao, 1961; 吴先军等, 1995; 欧阳海波等, 2004; 张花粉, 2007)。现以德保苏铁为例,当小孢子囊原基形成时,初生造孢细胞进一步分裂产生次生造孢细胞。这种细胞与小孢子囊壁层细胞明显不同,表现为细胞体积大、壁薄、细胞核占据细胞大部分、核仁多个、细胞质丰富和液泡不明显等(图 1-3a)。次生造孢细胞经过多次垂周分裂与平周分裂后形成一团次生造孢细胞(图 1-3b)。次生造孢细胞再持续进行多次有丝分裂,分化形成联结在一起的成熟造孢组织。同时,少数造孢细胞由于被挤压或吸收,趋于退化并解体,可能为其他造孢细胞的发育提供空间或营养。小孢子母细胞进一步发育后彼此逐渐分离,此时,游离的母细胞呈多边形,核仁多位于核一侧并紧贴核膜,部分母细胞内染色质丝明显可见,由此表明小孢子母细胞已进入减数分裂 I 前期。减数分裂前,母细胞开始积累淀粉颗粒(图 1-3c)。

在小孢子母细胞减数分裂 I 前期的早期,细胞体积有所增大,细胞质浓厚,细胞核占据细胞体积的大部分,并移向细胞一端,而另一端则集聚一团淀粉颗粒(图 1-3c)。随着减数分裂的进行,母细胞形状变成圆形或椭圆形,淀粉颗粒逐渐均匀分布于核的周围(图 1-3d)。母细胞的核相变化表现正常。在同一小孢子囊中,减数分裂的进行并不完全同步。在二分体时,淀粉颗粒集中分布在赤道板区域(图 1-3e)。小孢子母细胞在二分体形成后随即进行减数分裂 II,形成 4 个小孢子。4 个小孢子被厚厚的胼胝质壁包围,其排列方式以四面体形为主,同时也有左右对称形、交叉形,偶有直列式(图 1-3f)。

在苏铁类植物小孢子母细胞减数分裂过程中,胼胝质在其细胞壁上的沉积具规律性变化。张花粉(2007)对德保苏铁的观察发现,胼胝质最早出现于减数分裂 I 前期,并在相邻母细胞壁周围沉积形成带状,呈不连续分布(图 1-4a)。此后,随着减数分裂的进行,胼

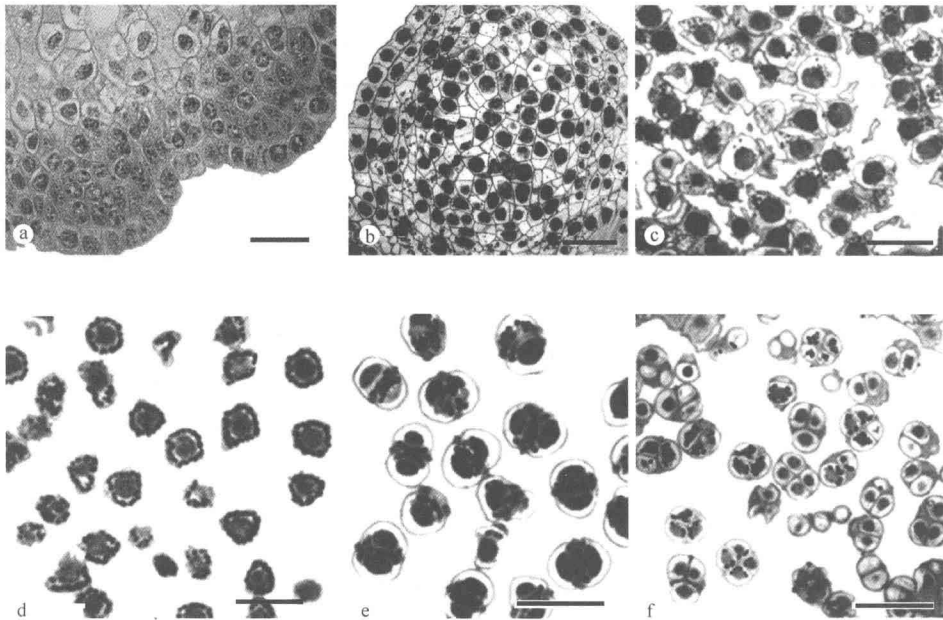


图 1-3 德保苏铁小孢子的发生过程(另见图版)

a. 初生造孢细胞; b. 次生造孢组织; c. 游离的小孢子母细胞; d. 减数分裂 I 前期;
e. 减数分裂 I 末期; f. 四分体(比例尺=20 μm) (引自张花粉, 2007)

胼质进一步在赤道板区域的母细胞壁上沉积,呈环带状分布,且逐渐增厚。至减数分裂 I 末期,母细胞赤道板区域的壁上已沉积了一圈厚厚的胼质壁(图 1-4b)。由于胼质以环带状形式沉积,所以只有经过赤道板区域的切片才能观察到完整而光亮的胼质环带,而从其他切面的切片仅仅能观察到赤道板区域两侧的两个亮点,或无荧光信号(图 1-4b)。由于胼质环带的形成,可能抑制了细胞局部的生长,在纵切面上观察,减数分裂 I 末期的母细胞外形多少有些呈“8”字型。这种环带状增厚的胼质逐渐向母细胞表面扩展,并未向母细胞中央延伸,即小孢子母细胞的两个子核间不形成细胞板(图 1-4c)。直到减数分裂 II 末期,围绕整个母细胞的胼质壁才开始以向心方式同时在 4 个子核间扩展延伸,最终在 4 个子核间形成分隔壁,并产生四分体,此时整个四分体均被厚厚的胼质壁包围(图 1-4 d)。

然而值得关注的是,在苏铁属植物小孢子发生过程中胞质分裂方式存在较大差异,其中同时型和连续型均有报道(Baird, 1939; Audran, 1964; 张花粉, 2007)。例如,叠鳞苏铁属的 *Macrozamia riedlei* 属于连续型(Baird, 1939);而蕨铁属的 *Stangeria eriopus* 和墨西哥角铁均属于同时型(Audran, 1964, 1981)。据报道,在苏铁属中,刺叶苏铁(*Cycas rumphii*)和攀枝花苏铁(*C. panzhihuaensis*)为连续型(de Silva and Tambiah, 1952; Rao, 1961; 吴先军等, 1995),但 de Silva 和 Tambiah (1952)对刺叶苏铁小孢子发生类型的判断是基于减数分裂 I 结束后,在赤道板区域的母细胞壁上出现厚的环状胼质带,从而推测,由于赤道板区域聚集丰富的淀粉粒,因而难以观察到两个子核间有细胞板的形成(Biswas and Johri, 1997)。然而在母细胞赤道区形成厚的胼质壁似乎是苏铁类植物小

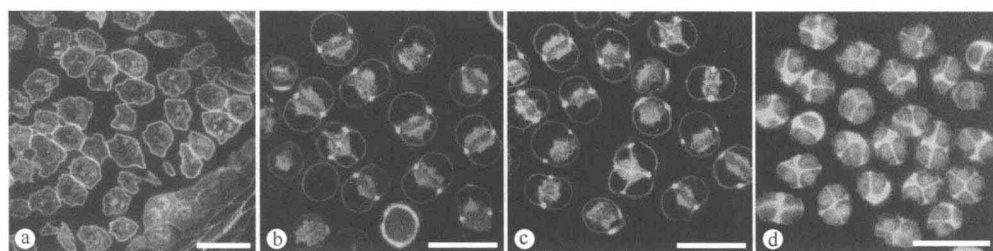


图 1-4 德保苏铁小孢子母细胞壁胼胝质的沉积过程(另见图版)

采用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)与苯胺蓝染色。a. 减数分裂 I 前期, 小孢子母细胞开始沉积胼胝质; b~d. 同时型的胞质分裂(b, c 为减数分裂 I 末期, 部分细胞进入减数分裂 II 末期; d 为减数分裂 II 末期)
(比例尺=20 μm) (引自张花粉, 2007)

孢子发生时普遍具有的特征(Singh, 1978), 因此, de Silva 和 Tambiah (1952)的判断仍有待于进一步的研究验证。

张花粉(2007)利用荧光显微技术观测了 5 种苏铁属植物的胞质分裂过程, 发现苏铁属小孢子发生时的胞质分裂方式为同时型(图 1-4a~d)。同时, 在将半薄切片和石蜡切片的观察结果进行对比时发现, 由于石蜡切片的厚度较大, 在对胞质分裂类型的判断时, 易受小孢子母细胞壁上环状加厚的胼胝质带所干扰, 并误认为是在减数分裂 I 结束后两个子核间形成的细胞板。Audran (1974)通过对墨西哥角铁小孢子发生过程的超微结构观察也表明, 细胞壁的形成开始于减数分裂 II 末期, 其胞质分裂方式为同时型。由此可见, 对于前人采用常规石蜡切片法观察苏铁类植物的小孢子发生, 尤其是小孢子母细胞减数分裂时的胞质分裂方式所得到的结果有必要进行重新评价。

二、小孢子发育

有关苏铁类植物的小孢子发育过程在苏铁属、角铁属、多脉苏铁属、叠鳞苏铁属、小苏铁属和大苏铁属等植物的部分种类均已报道(Chamberlain, 1909, 1912; Downie, 1928; Baird, 1939; Rao, 1961; Audran, 1974; 吴先军等, 1995; 欧阳海波等, 2004)。当小孢子母细胞的胼胝质壁溶解后, 小孢子从四分体中释放出来, 此时的小孢子富含细胞质, 细胞核位于中央, 核体积较大, 结构松散。小孢子进一步发育, 体积迅速增大, 壁加厚, 细胞质发生液泡化, 并逐渐形成一个大液泡, 并将细胞核挤向细胞一侧(图 1-5a), 细胞质也成一薄层紧贴细胞壁, 小孢子细胞呈不规则形状, 多为长椭圆形或肾形等。随后, 小孢子形状逐渐变成圆形或椭圆形, 并进行第一次有丝分裂, 此时的细胞核略贴近细胞壁(图 1-5b)。第一次有丝分裂形成一个原叶细胞和一个分生组织原始细胞, 最初两者细胞核大小无明显差别, 均为长圆形, 随着花粉进一步发育, 分生组织原始细胞核变大, 染色较淡, 核呈球状, 而原叶细胞暂无明显变化。随后, 分生组织原始细胞进行有丝分裂, 形成一个靠近原叶细胞的生殖细胞和一个较大的管细胞(图 1-5c)。在同一小孢子囊中, 有丝分裂的启动与结束并不完全一致。两次有丝分裂结束后, 花粉至散粉前原叶细胞与生殖细胞均变成线状结构。通常散粉状态的花粉结构为三细胞花粉, 即一个原叶细胞、一个生殖细胞和一个管细胞。

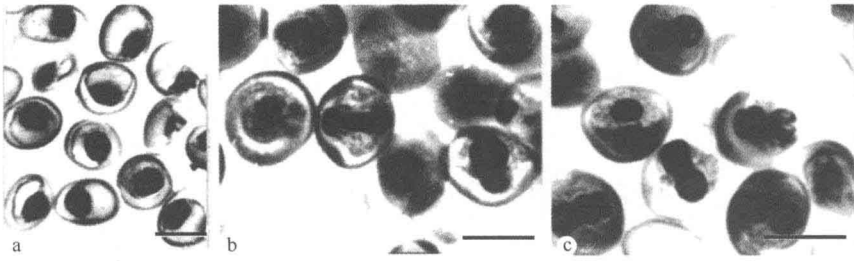


图 1-5 越南篦齿苏铁小孢子的发育过程

a. 游离小孢子; b. 小孢子第一次有丝分裂; c. 成熟的三细胞花粉(比例尺=20 μm) (引自欧阳海波等, 2004)

三、花粉形态与结构

Wodehouse (1935)最早利用光学显微镜研究苏铁类植物的花粉形态特征,并详细描述了苏铁属(2种)、大苏铁属(5种)、角铁属(1种)、多脉苏铁属(1种)植物及美冠小苏铁(*Microcycas calocoma*)的花粉形态。迄今,国内外研究者利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜技术对现存苏铁类植物的花粉形态进行了大量研究(Afzelius, 1956; Ueno, 1960; Pettitt, 1966; Audran and Masure, 1976; Dehgan and Dehgan, 1988)。其中, Dehgan和 Dehgan (1988)还对苏铁类植物 10 属 29 种的花粉形态及超微结构作了综合比较分析,发现苏铁类植物花粉的形态特征一般为船形,具单沟,两侧对称,远极面观呈狭椭圆形至宽椭圆形或近球形,外壁纹饰有较大变异,光滑或具小穴或具小沟。花粉大小在属间变化较大,通常花粉的赤道轴长 11.07~23.07 μm ,极轴长 21.12~39.08 μm 。超微结构的观察显示,苏铁类植物花粉壁分为明显的外壁和内壁内外两层,外壁具典型的覆盖层,外壁外层为蜂窝海绵状,外壁内层为片状结构。苏铁类植物属内种间的花粉在形状、大小方面差异微小,不足以作为划分种的依据,但属间的花粉形态和超微结构存在或多或少的差异(唐亚等, 1995; Dehgan and Dehgan, 1988)。Gullvag (1966)曾报道了墨西哥角铁花粉外壁是由内侧的片层和外侧的颗粒层组成。在同一种植物中, Audran (1981)也指出,在萌发孔区,外壁不具管道状结构,外壁外层与外壁内层融合在一起。Skvarla 和 Rowley (1970)还描述了叠鳞苏铁属的 *Macrozamia reidleyi* 花粉外壁超微结构,发现两层外壁外层不明显,在萌发孔区也无管道状结构。上述例证说明,苏铁类植物不同属之间花粉外壁均有变异。

泽米铁科的鳞苏铁属和大头苏铁属两属植物的花粉赤道面观为宽椭圆形,而叠鳞苏铁属的花粉赤道面观呈狭椭圆形至椭圆形,上述 3 属植物花粉的外壁表面纹饰均较光滑,外壁外层是苏铁类植物中最薄的,其泡状层样式和厚度较为相近,花粉壁内壁均呈颗粒状(图 1-6h~j)。莲铁属(图 1-6g)花粉赤道面观呈宽椭圆形,外壁纹饰为微弱小穴状,外壁层分为明显的两层,内外层厚度大致一样。外壁外层包括覆盖层、泡状层和基层 3 层,但基层不连续,泡状层为单层。内壁一般呈颗粒状,但部分呈片状。它与大头苏铁属和鳞苏铁属花粉在赤道面观轮廓、外壁外层厚度及其泡状层样式等方面相似。大苏铁属(图 1-6d)花粉的赤道面观为宽椭圆形或近圆形,外壁纹饰粗糙穴状,内壁颗粒状。角铁属花粉赤道面观宽椭圆形至近圆形,外壁表面纹饰粗糙穴状,内壁大部分片状,罕见颗粒