

鹤顶兰花粉管在子房中的生长途径

李冬妹^{1,2}, 叶秀琳^{1*}, 梁承邨¹, 胡晓颖¹

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 顺德职业技术学院, 广东 顺德 528300)

摘要:运用扫描电镜对鹤顶兰 (*Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl.) 花粉管在子房内的生长途径进行了观察。结果表明:花粉管在子房中的生长途径可以分为 3 个阶段:(1)沿了房壁轴向生长阶段,从授粉开始至大孢子母细胞四分体时期,花粉管经过个蕊柱到达子房,经由胎座基部沿子房壁轴向生长;(2)沿子房径向生长阶段,二核胚囊之后,花粉管在胚珠之间穿梭,以径向生长为主;(3)朝珠孔定向生长阶段,胚囊成熟时,花粉管朝珠孔定向生长进入胚囊。实验结果说明花粉管的定向生长受胚珠的分子信号调控。

关键词:鹤顶兰;花粉管;子房;胚囊发育

中图分类号:Q944.42

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2006)02-0130-04

Growth Paths of Pollen Tubes in Ovary of *Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl. (Orchidaceae)

LI Dong-mei^{1,2}, YE Xiu-lin^{1*}, LIANG Cheng-ye¹, HU Xiao-ying¹

(1. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

2. Shunde Polytechnic, Shunde 528300, China)

Abstract: Pollen tube growth in the ovary of *Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl. (Orchidaceae) as observed under scanning electron microscope could be divided into three stages. In first stage, from the beginning of pollination to megaspore tetrad, pollen tubes grow axially, passing through gynostemium to the ovary and from proximal placenta along ovary wall develop upward. In second stage, after 2-nucleate embryo sac development, most pollen tubes grow radially around ovules. In third stage, at maturing of the embryo sac, pollen tubes grow directionally toward micropyle into embryo sac. It is suggested that directional growth of pollen tubes are controlled by molecular signal in ovule.

Key words: *Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl.; Pollen tube; Ovary; Embryo sac development

花粉在柱头上萌发和生长后,花粉管沿着花柱一直延伸到子房,进入胚囊释放精细胞,实现精卵结合,这就是亲和受精过程^[1]。在亲和受精过程中,花粉管的生长速度和方向性已成为人们普遍关注的焦点。然而由于技术上存在困难,有关花粉管活体状态下生长的研究很少^[2]。现有的研究结果显示:花粉管在离体和活体状态下的生长存在很大的差

异^[2]。了解其授粉后花粉管的生长情况,将有利于进一步探讨花粉管生长调控的机制。鹤顶兰 (*Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl.) 授粉大约 30 d 后形成胚珠原基,至胚囊成熟完成双受精大约需要 45 d^[3]。鹤顶兰胚珠发育的这一特点,使我们可以研究花粉管在植物体内的生长规律。本文运用扫描电子显微镜技术,研究鹤顶兰花粉管在子房中的生长途径,旨在

收稿日期:2005-11-22 接受日期:2006-01-09

基金项目:国家自然科学基金(30170061);广东省科技计划资助项目(C20304•2002A2040801);广东省重大科技专项(2003A2010401)资助

* 通讯作者 Corresponding author

进一步探讨植物亲和受精的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为中国科学院华南植物园兰花试验园栽培的鹤顶兰 (*Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl.)。2003年3-5月植株开花期间进行人工异花授粉,然后采集不同发育时期的子房。

1.2 方法

扫描观察 取子房中部的一段(包括子房壁、胎座和胚珠),用2%戊二醛(0.1 mol/L磷酸缓冲液,pH6.8)于室温下抽气固定4 h。磷酸缓冲液冲洗后,用1%的锇酸4℃再固定12 h。梯度酒精脱水, JSM-6360LV 扫描电镜观察并照相。

光镜观察 取子房中部的胚珠,用2%戊二醛、1%锇酸双固定后,梯度酒精脱水,环氧丙烷过渡, Epon-812包埋。用玻璃刀作半薄切片(厚度3 μm),0.5%的甲苯胺蓝溶液染色,光学显微镜下观察并照相。

2 观察结果

鹤顶兰子房下位,一室,侧膜胎座,具极多数的胚珠,胚珠倒生。根据鹤顶兰花粉管在子房内的生长方向,我们把鹤顶兰花粉管在子房内的生长路径分为三个阶段:沿子房壁轴向生长阶段;沿子房径向生长阶段;朝珠孔定向生长阶段。

2.1 沿子房壁轴向生长阶段

鹤顶兰授粉后,合蕊柱上的花粉先后萌发出花粉管,花粉管穿过合蕊柱到达了房。花粉管在该阶段生长的速度较慢,萌发最早的花粉管大约要经过25 d完成该阶段的生长。此时,子房内胎座基部只有为数不多的花粉管(图版 I:1)。到达子房内的花粉管迅速伸长,授粉后30 d,胚珠之间仍未见有花粉管出现(图版 I:2),而胎座基部则可见大量的花粉管集结成束(图版 I:3),沿子房轴向生长(图版 I:4)。在外珠被发育完全之前,花粉管以轴向生长为主,以不同的长度分布在子房内胎座的基部,只有少数呈径向生长(图版 I:5)。

2.2 沿子房径向生长阶段

当大量的花粉管到达了房内,几乎填充了胎座基部的所有空间。然后,花粉管开始沿子房径向生长(图版 I:6)。此时的径向生长实际上是一种不定向生长,花粉管随机地在胚珠之间穿梭,部分花粉管甚至游离到子房中央空隙处(图版 I:7)。

2.3 朝珠孔定向生长阶段

胚珠进一步发育,在胚珠内珠被和外珠被发育完全的稍后一段时间,花粉管开始朝珠孔定向生长,进入胚囊内,完成双受精作用(图版 I:8,9)。一旦有花粉管进入珠孔,其余的花粉管则停止生长,不再进入胚囊,而后逐渐解体。

3 讨论

鹤顶兰胚珠的发育在授粉后才开始启动,对其胚囊发育的形态学观察表明^[1]:当外珠被尚未完全包住内珠被时,胚囊处于大孢子二分体时期;当外珠被与内珠被齐平时,已发育到大孢子四分体时期;当外珠被把内珠被完全覆盖时,处于二核胚囊时期。结合胚囊发育的形态学研究,我们发现:鹤顶兰从授粉到胚囊处于二分体之前,大部分花粉管还处于合蕊柱中,子房内只有少量的花粉管出现;四分体时期,花粉管开始在子房内大量出现,并经由胎座基部沿子房壁轴向生长;二核胚囊之后,花粉管在胚珠之间穿梭,以径向生长为主;胚囊成熟时,花粉管朝珠孔定向生长进入胚囊。

鹤顶兰花粉管在合蕊柱中的生长速度明显比其在子房内慢。经过30多天的生长,花粉管穿过合蕊柱到达子房最上端,长度约2.5 cm,而花粉管在长达5 cm左右的子房内的轴向生长只需10多天。二分体时,授粉后30多天,子房内胎座基部才有为数不多的花粉管;四分体时,花粉管仍在胎座基部生长,胚珠之间未见有花粉管出现;二核胚囊之后,花粉管在各胚珠之间穿梭;胚囊成熟时,花粉管经珠孔进入胚囊完成双受精。Suwan等^[10]则提出:二核花粉管生长分为自养阶段和异养阶段,这两个阶段花粉管生长较快,而在它们的过渡阶段花粉管生长较慢。鹤顶兰花粉管在花柱中的生长情况有待于进一步研究。

鹤顶兰花粉管在子房内的生长导向可能受胚

珠的细胞生物信息调控。胚珠尚未发育完全时,花粉管在子房内的生长基本是不定向的,轴向生长和径向生长应该是膨压和生长阻力共同作用的结果;胚珠发育成熟时,随机生长的花粉管朝珠孔定向生长。其它植物中也观察到类似的现象,玉米体内生长的花粉管,经过多次重新取向,可以进入胚囊,表现出明显的向性生长特性^[6]。而离体培养条件下,花粉管虽然能正常生长,但它们的生长多无方向性^[4]。有人在金鱼草属(*Antirrhinum*)植物花柱上部到胚珠与胎座之间成功地检测到 Ca^{2+} 浓度梯度的存在^[7],这种梯度在其他植物中也得到证实^[8]。目前比较一致的看法是: Ca^{2+} 浓度梯度能够影响花粉管的定向生长。Tian 等^[9]则发现受精后胚珠内 Ca^{2+} 浓度梯度消失。由此可见:胚珠中存在某些信息物质,引导花粉管的定向生长,从而有效地保证亲和受精过程中雌雄配子体的结合。

参考文献

- [1] Yang J (杨杰), Yu X Y (于小艳), Li Y H (李玉花). Adhesion and directional growth of pollen tubes in the compatible pollination of plant [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 2004, 40 (6):659-665. (in Chinese)
- [2] Roy S, Eckard K J, Lancelle S, et al. High-pressure freezing improves the ultrastructural preservation of *in vivo* grown lily pollen tubes [J]. *Protoplasma*, 1997, 200:87-98.
- [3] Ye X L (叶秀麟), Yeung E (杨子德), Zee S Y. (徐是雄), et al. Confocal microscopic observations on microtubular cytoskeleton changes during megasporogenesis and megagametogenesis in *Phaius tankervilleae* (Aiton) Bl. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1996, 38(9):677-685. (in Chinese)
- [4] Cheung A Y, Wang H, Wu H M. A floral transmitting tissue specific glycoprotein attracts pollen tube and stimulates their growth [J]. *Cell*, 1995, 82:383-393
- [5] Xing S P (邢树平). Research advances in regulation of pollen tube growth [J]. *Guihaia* (广西植物), 1998, 18(1):82-88. (in Chinese)
- [6] Malho R, Read N D, Trewavas A J, et al. Calcium channel activity during pollen tube growth and reorientation [J]. *Plant Cell*, 1995, 7:1173-1184
- [7] Mascarenhas J P, Leonard M. Chemotropic response of *Antirrhinum majus* pollen to calcium [J]. *Nature*, 1962, 196:292-293.
- [8] Yang H Y (杨弘远). The role of calcium in the fertilization process in flowering plants [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1999, 41(10): 1027-1035 (in Chinese)
- [9] Tian H Q, Russell S D. Calcium distribution in fertilized and unfertilized ovules and embryo sacs of *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Planta*, 1997, 202:93-105
- [10] Suwan T, John N. Pollen viability and pollen tube growth following controlled pollination and their relation to low fruit production in teak (*Tectona grandis* L.f.) [J]. *Ann Bot*, 1997, 80: 401-410.

图版说明

II: 内珠被 Inner integument; O: 胚珠 Ovule; OI: 外珠被 Outer integument; OW: 子房壁 Ovary wall; P: 胎座 Placenta; Pt: 花粉管 Pollen tube.

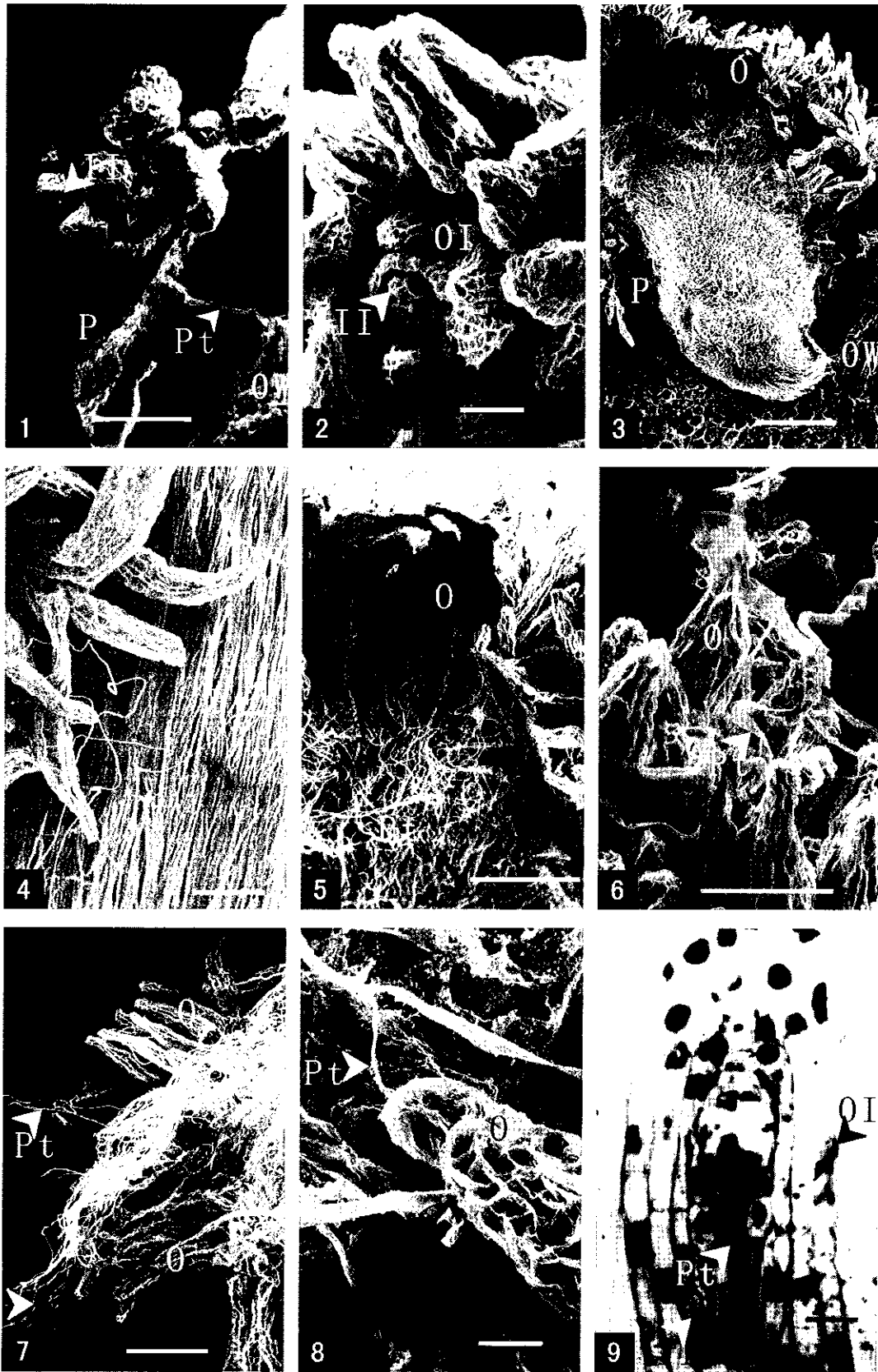
图版 I

- 授粉后 25 d, 外珠被还未完全覆盖内珠被, 胎座基部只有少数花粉管; bar=100 μ m
- 授粉后 30 d, 外珠被与内珠被平齐, 胚珠之间未见有花粉管出现; bar=100 μ m
- 授粉后 30 d, 花粉管集结成束, 经出胎座基部生长; bar=500 μ m
- 胎座基部的花粉管沿子房壁轴向生长; bar=100 μ m
- 少数花粉管径向生长; bar=100 μ m
- 花粉管径向生长, 在胚珠之间穿梭; bar=100 μ m
- 部分花粉管游离到子房中央; bar=200 μ m
- 花粉管定向生长, 进入胚珠珠孔的花粉管; bar=20 μ m
- 胚珠纵切, 示花粉管从珠孔进入成熟胚囊; bar=5 μ m

Explanation of plate

Plate I

- The outer integument not completely covering the inner integument after pollination for 25 days, showing a pollen tube on the placenta.
- No pollen tube among ovules observed, the outer integument just completely covering the inner integument after pollination for 30 days.
- Showing pollen tubes clustered around the placenta after pollination for 30 days.
- Pollen tubes on proximal placenta growing axially along ovary wall.
- A few pollen tubes growing radially.
- A few pollen tubes growing radially among the ovules.
- Some pollen tubes reaching to the center of ovary.
- Pollen tubes growing directionally toward micropylar into ovules as embryo sacs matured.
- Longitudinal section of ovule, showing pollen tube growing directionally toward the micropylar into mature embryo sac. bar=100 μ m for figures 1,2,4,5 and 6; 500 μ m for figure 3; 200 μ m for figure 7, 20 μ m for figure 8, and 5 μ m for figure 9.



李冬妹等: 图版 I

LI Dong-mei et al.: Plate I