

油茶柱头和花柱的显微与超微结构特征

高超^{1,3}, 杨瑞², 郭其强¹, 袁德义^{3*}

(1. 贵州大学, 贵州省森林资源与环境研究中心, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学, 林学院, 贵州 贵阳 550025;

3. 中南林业科技大学, 经济林培育与保护教育部重点实验室, 经济林育种与栽培国家林业局重点实验室, 湖南 长沙 410004)

摘要: [目的] 从显微和超微层面探究油茶柱头和花柱的结构特征, 可为探讨油茶自交不亲和性的细胞学机制提供理论依据, 同时也为油茶杂交育种工作奠定基础。 [方法] 以开花当天的雌蕊为试验材料, 利用细胞学方法研究油茶柱头和花柱的显微及超微结构特征。 [结果] 油茶雌蕊具完整的柱头、花柱和子房结构, 湿性柱头其表面密布乳突细胞, 排列紧密, 细胞质浓厚, 细胞器丰富, 细胞间具有丰富的分泌物。基本组织细胞内含物和细胞器较少, 细胞壁薄且壁外无分泌物。整个花柱由 3~5 根独立花柱组成, 上端约 2/3 部分相互分离形成离生区, 从 2/3 处开始到花柱基部相互连接形成合生区。每根花柱中空, 由外表皮、基本组织和花柱道内表皮构成。花柱通道细胞外充满大量分泌物, 该细胞比基本组织细胞大而规则, 细胞质浓厚, 具有腺质细胞的特点。花柱道从上到下贴合逐渐紧密, 花柱基部的各花柱道之间相互连通, 形成狭小的缝隙。 [结论] 本研究分析了油茶柱头和花柱的显微及超微结构特征, 探明柱头乳突和花柱通道细胞为分泌型细胞, 基本组织细胞结构单一, 从柱头到子房花柱道逐渐变窄, 在基部相互连通形成狭小的缝隙, 花柱通道细胞从上至下壁外分泌物和细胞内细胞质浓度、细胞器数量与种类具有逐渐增加的趋势和特点。

关键词: 油茶; 柱头; 花柱; 显微结构; 超微结构

中图分类号: S794.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2019)01-0001-07

被子植物的柱头承受花粉并为花粉萌发提供必须基质和识别, 柱头下为花柱结构, 是花粉管生长的通道。柱头与花柱形成一个整体, 使花粉管到达胚珠。花柱是花粉-雌蕊相互作用的部位, 也是自交不亲和性反应的场所, 因此, 花柱的结构必然对花粉管的生长产生影响, 并在雌蕊对花粉管的识别过程中发挥主导作用^[1-2]。同时, 柱头与花柱也分别是孢子体与配子体自交不亲和性反应发生的场所, 花粉管生长分别在柱头和花柱中受到抑制^[3]。我国学者过去曾在少数植物中开展过关于花柱结构的专门研究: 胡适宜等^[4]对王百合(*Lilium regale* Wilson)花柱通道细胞的超微结构研究发现, 其通道细胞分泌面的细胞壁的内侧具有许多伸向细胞质的内突, 证实通道细胞是一种典型的分泌型传递细胞。狭叶锦

鸡儿(*Caragana stenophylla* Pojark.)花柱道中含有丰富的营养物质, 有的是通道细胞分泌, 有的是分泌面的壁破裂后原生质流入花柱道中^[5]。荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench)成熟的柱头表面无乳突细胞, 柱头细胞的细胞壁存在发达的壁内突, 花柱为实心型无引导组织^[6]。而在大多数植物中, 对发生在柱头和花柱中的自交不亲和性研究多是观察花粉管发生的抑制反应, 对花柱本身的结构特征或变化则很少提及^[3,7-10]。

油茶(*Camellia oleifera* Abel.)为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)常绿灌木或小乔木, 是我国南方重要且特有的木本食用油料树种^[11]。油茶在我国种植历史悠久, 但生产中产量一直很低, 存在花多果少、坐果率低的症结。本研究组历时 8 年,

收稿日期: 2017-11-14 修回日期: 2018-11-20

基金项目: 国家自然科学基金(31800516, 31170639); 贵州省一流学科建设项目(GNYL[2017]007); 贵州省重大专项项目(黔科合重大专项字[2016]3022-06); 贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2018]5781号, 黔科合JZ字[2014]200211); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合KY字[2018]097)和贵州大学引进人才科研项目(贵大人基合字[2017]41号)

* 通讯作者: 袁德义. E-mail: yuan-deyi@163.com

通过大量研究已探明油茶为自交不亲和性植物,自交不亲和反应发生在花柱基部^[7,12-14]。这一发现主要基于对自交花粉管生长情况的观察而得出,并未涉及花柱的结构特征和变化趋势。但随着研究的深入,在进一步解析自交花粉管在花柱中的抑制机制和花粉管在花柱中的定向生长等一系列问题时受到阻碍,在之前的研究中尚未开展花柱结构的研究,因而不能将自交不亲和反应发生前、后花柱结构变化进行关联分析以阐明自交不亲和性发生的细胞学机制。为解决上述问题,应首先探明油茶未授粉前成熟花柱的结构特征,因此,本研究基于前期研究的基础,利用切片技术观测柱头和花柱的显微和超微结构特征。同时在山茶属植物中,也还未见关于花柱结构的详细、系统的报道,特别是未见油茶花柱超微结构方面的报道。本研究可为进一步解析油茶自交不亲和反应的花粉管-花柱互作机制提供理论依据,同时也为油茶远缘杂交育种工作奠定理论基础,丰富油茶生殖生物学资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选择生长健壮、能正常开花结果的油茶为试验材料采集对象,材料种植于中南林业科技大学校园,常规水肥管理。本研究中以开花当天未授粉雌蕊的成熟花柱为试验材料,进行显微和超微结构研究。

1.2 试验方法

1.2.1 显微结构观测 显微结构观测参照高超^[12]的方法进行样品制备。将油茶未授粉的成熟花柱取下后放置在卡诺(Carnoy's)固定液[95%乙醇:冰醋酸(V/V)=3:1]中固定12 h,同时抽尽材料中的空气,后转入到70%的酒精溶液中并置于4℃冰箱保存备用。将固定好的材料进行适当修整后经各浓度酒精逐级脱水、二甲苯透明、石蜡渗透后包埋,石蜡切片(Leica RM2235, Germany)切片,厚度为8 μm。后经粘片、脱蜡、复水、4%硫酸铁铵媒染3 h、0.8%爱氏(Ehrlich's)苏木精染色25 min、2.0%硫酸铁铵分色20 min、再经脱水、0.2%曙红染色,最后用加拿大树胶制作永久封片。最后于光学显微镜(Olympus BX-51, Japan)下拍照。

1.2.2 扫描电镜观测 扫描电镜观测的制样是用镊子和解剖刀小心取下并切割花柱,用2.5%戊二醛固定液(0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液配制)前固定2 h,磷酸缓冲液(0.1 mol·L⁻¹)洗涤后用1%锇酸固

定液(0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液配制)后固定2 h,磷酸缓冲液(0.1 mol·L⁻¹)洗涤后乙醇梯度脱水,过渡到叔丁醇中后,冷冻干燥。将样品摆放在样品台上放入离子溅射仪中镀金20 min。用扫描电子显微镜(JSM-6390, Japan)进行观察、拍照。

1.2.3 透射电镜观测 超微结构制样是用解剖工具小心切下花柱,迅速投入到由2.5%戊二醛、0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.2)配制的前固定液中,在4℃冰箱中固定4 h。用0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液洗涤3次,每次30 min;再加入由1%锇酸、0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液配制的后固定液在4℃冰箱中固定12 h。用上述缓冲液洗涤3次,每次30 min。后用丙酮梯度系列脱水,EMbed 812 树脂包埋。包埋块在超薄切片(Leica UC7, Germany)上用玻璃刀切取厚度为1 μm的半薄切片,用1%甲苯胺蓝染液染色20 s,光学显微镜拍照(Olympus BX-51, Japan)并观察、拍照。根据选取的典型切片,对树脂块再次修整后用钻石刀切为60 nm厚度的超薄切片,镀膜铜网捞片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色(分别染色20 min)并晾干后,用透射电子显微镜(Hitachi TEM system 7700, Japan)观察、拍照。

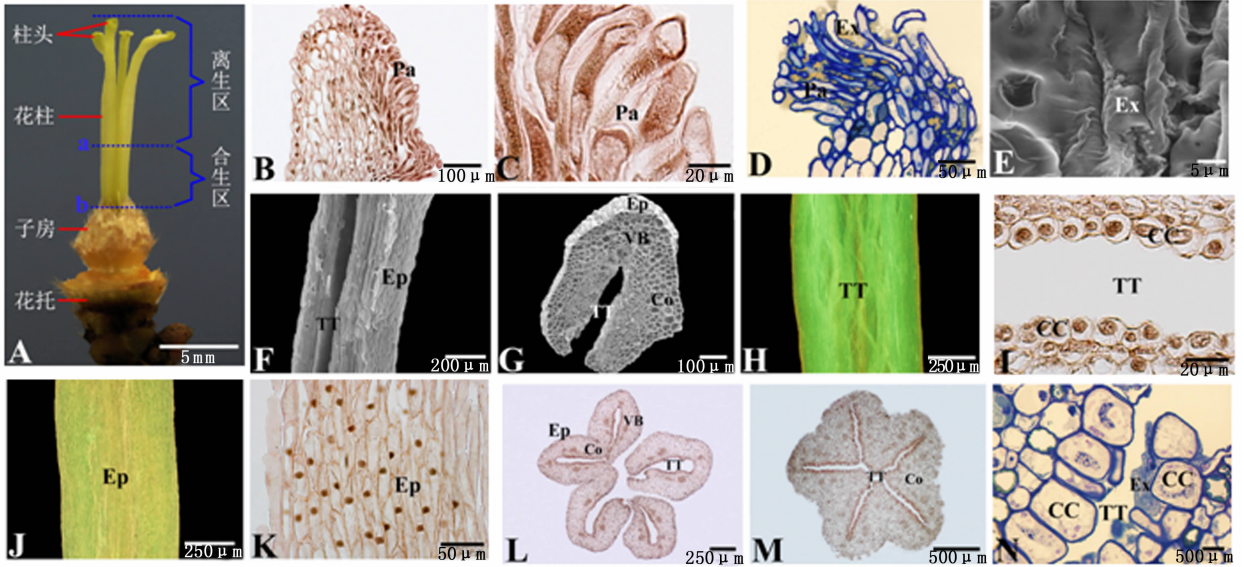
2 结果与分析

2.1 油茶柱头与花柱的显微结构

油茶为完全花,开花当天雌蕊已成熟,具有完整的柱头、花柱和子房结构,雌蕊着生于花托之上(图1A)。油茶为典型的湿性柱头,柱头表面密布乳突细胞,与柱头以下的花柱基本组织差异显著。乳突细胞呈狭长条状,排列紧密,细胞质浓厚,而基本组织的细胞呈椭圆状,排列较为疏松,仅能观察到细胞核,细胞质不明显(图1B、C)。柱头上大量的乳突细胞展开最大面积可更多的接收花粉粒。乳突细胞间或表面具有丰富的分泌物(图1D、E),此为花粉萌发和识别提供基本的物质基础。油茶花柱通常由3~5根独立花柱共同组成,整个花柱长约11~13 mm左右,上端约2/3的部分相互分离形成离生区,从2/3处开始(图1A中a处)到花柱基部(图1A中b处)每根之间相互连接形成合生区。离生区的每根独立花柱卷合形成中空的贝壳状(图1F),横切面观察每根花柱由外表皮、基本组织和花柱道内表皮构成(图1G)。将花柱平展开后在荧光显微镜下观察外表皮和内表皮有明显差异,花柱道内表皮是花粉管生长的通道,内表皮由一层排列紧实近圆形细

胞构成,这层细胞比基本组织细胞大而规则,在光镜下可观察到细胞核明显,细胞质浓厚,具有腺质细胞的特点(图1H、I),外表皮细胞为长型细胞,排列疏松,细胞核小(图1J、K),这些特征都反应了通道内表皮细胞在花柱成熟时活跃的状态。在花柱的合生区,外表皮、基本组织和花柱道内表皮各部位均逐渐合生(图1L),整个花柱从上到下呈现出花柱道逐渐贴合的趋势,越往下花柱道贴合越紧密,间隙也越来

越小,特别是到花柱基部后,在离生区相互独立的每根花柱的花柱道在花柱基部(b处)聚合到一起,并且各自成为一道狭小的缝隙,同时各道之间相互连通(图1M),与花柱开始合生处(a处)的花柱道内表皮细胞相比,花柱基部的花柱道内表皮细胞排列更加紧密、规整,而且细胞更大,细胞中大液泡明显,细胞外有明显的分泌物(图1N)。



A. 油茶雌蕊的形态,由柱头、花柱和子房构成,花柱可分为离生区和合生区;B. 柱头纵切面,乳突细胞和基本组织可明显区分;C. 乳突细胞(B中红色方框处放大)呈长条形,排列紧密;D. 乳突细胞间充满分泌物;E. 扫描电镜观察油茶柱头乳突细胞外有大量分泌物;F. 花柱离生区的单根花柱,可见中空的花柱道;G. 离生区的单根花柱横切面,由外表皮、基本组织和内表皮构成;H. 花柱离生区的单根花柱平展开后的引导组织面;I. 花柱离生区末端的单根花柱的一层内表皮细胞,细胞核明显,花柱通道较宽;J. 花柱离生区的单根花柱平展开后的外表皮面;K. 花柱外表皮细胞呈长条形,细胞核小;L. 花柱离生区末端(a处)的横切面,相互分离的花柱开始合生;M. 花柱基部(b处)的横切面,花柱道聚合形成相互连通的缝隙;N. 花柱基部的引导组织细胞,细胞外有明显分泌物,花柱道变窄。

A. The *C. oleifera* pistil is composed of stigma, style, and ovary. The style is composed of separation area and connate area; B. The longitudinal section of stigma, papillate cells and cortex can be clearly distinguished; C. Papillate cells close together (enlargement of red box in B); D. Papillate cells filled with exudates; E. Observing the exudates by scanning electron microscope; F. A single style in separation area and the style canal is hollow; G. Transverse section of a single style in separation area, it consists of epidermis, cortex, and transmitting tissue; H. Transmitting tissue of a single style in separation area; I. A single layer of canal cells at the base of a single style in separation area and the nucleus is clear and the style channel is wide; J. Epidermis of a single style in separation area; K. The epidermis cells of the style were elongated and the nucleus was small; L. Transverse section at the base of separation area and isolated styles begin to connect; M. Transverse section at the base of style and the stylar canal was connected with each other at the base of the style; N. The canal cells at the base of style. There was obvious exudate outside the cell, and the style channel was narrow.

CC: 引导组织细胞 Canal cell; Co: 基本组织 Cortex; Ep: 表皮 Epidermis; Ex: 分泌物 Exudate; Pa: 乳突细胞 Papilla; TT: 引导组织 Transmitting tissue; VB: 维管束 Vascular bundle.

图1 油茶柱头和花柱的显微结构

Fig. 1 Microstructure of the stigma and style in *C. oleifera*

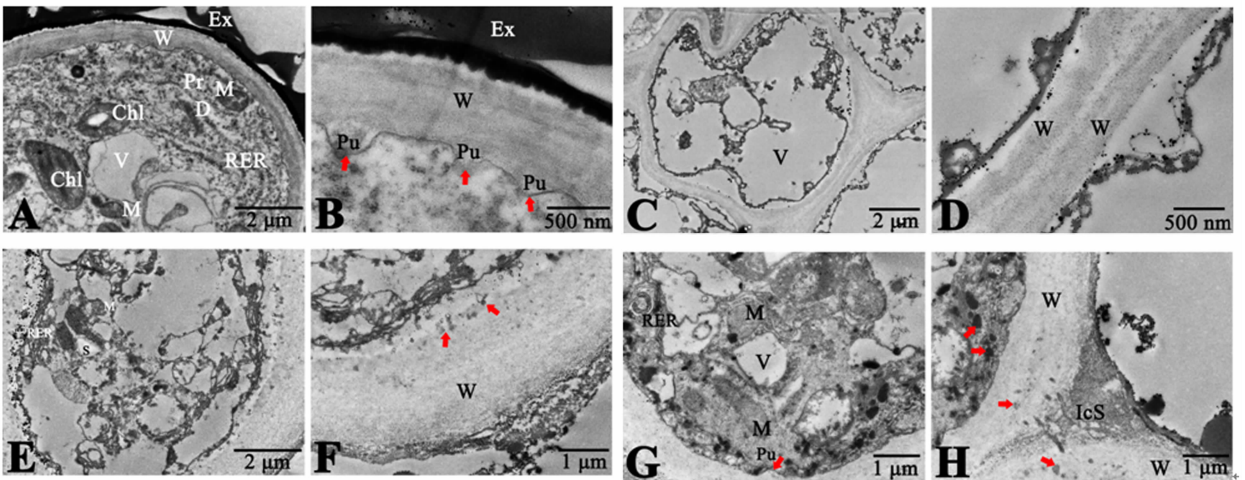
2.2 油茶柱头与花柱的超微结构

花柱是花粉管生长的通道,而柱头是花粉粒的接受体,是花粉最早接触雌蕊的部位,在花粉-柱头

相互作用中起到重要作用。在对柱头的显微结构观察中,已观察到油茶柱头乳突细胞呈长条形,相互之间排列规整,通过超微结构观察到乳突细胞中细胞

质浓厚,细胞器丰富,分布有大量内质网、高尔基体、多聚核糖体、线粒体、叶绿体和液泡等(图2A)。在细胞壁外观察到有大量分泌物,为花粉萌发提供条件,这也是湿型柱头的特征,同时还观察到细胞壁存在内突的现象,这也是典型的腺质细胞的特征(图2B)。在花柱基本组织细胞中,细胞内含物较少,细胞器也较少,细胞壁薄且壁外无分泌物(图2C、D),这些特征表明基本组织在花柱中主要行使从柱头到子房的结构支撑功能,并且从花柱上部到花柱基部的整个花柱中,花柱基本组织细胞的结构特征均无太大变化,比较一致;但在花柱通道细胞中情况则不同。观察花柱离生区的通道内表皮细胞发现,这一段花柱的内表皮细胞较大,细胞质比基本组织细胞稍多,可观察到的细胞器数量和种类均相对较多,主

要以内质网、高尔基体和线粒体为主(图2E),另外一个明显的特征是这段花柱内表皮细胞的细胞壁非常厚,在壁外可以观察到有一些分泌物存在,这些分泌物与柱头的分泌物相比,所呈现的状态有一定差别(图2F);在花柱合生区部分的通道细胞中,细胞质较花柱离生区的通道细胞更浓厚,细胞器数量和种类也更丰富,主要以线粒体、内质网为主,在该细胞中同样观察到内突的现象(图2G)。在此段花柱的细胞间隙和壁外可以观察到同样存在分泌物。这些细胞分泌物首先以团状形式(红色箭头)出现在细胞壁与质膜之间的区域,然后通过外排作用分泌至通道细胞间隙内(图2H)。通道细胞内细胞质浓度、细胞器数量与种类在整个花柱中呈现逐渐增加的趋势。



A. 乳突细胞中含有丰富的细胞器;B. 细胞壁内突,壁外有丰富的分泌物;C. 花柱基本组织细胞,基本组织细胞内细胞器较少;D. 基本组织细胞的细胞壁薄且壁外无分泌物;E. 花柱离生区的通道细胞,细胞器较基本组织细胞多;F. 离生区的通道细胞壁厚且壁外有部分分泌物;G. 合生区通道细胞比离生区通道细胞内细胞质浓厚、细胞器丰富;H. 合生区通道细胞外的间隙有大量分泌物存在。

A. There are abundant organelles in the papillate cells; B. Wall ingrowths occurred in papillate cells and there are abundant exudate outside the wall; C. Cortex cell of style, there are fewer organelles in the cortex cell; D. Cortex cell wall was thin and without exudates outside the wall; E. Canal cell at separation area, organelles in canal cell are more than that in cortex cell; F. Canal cell wall at separation area was thickness and there are some exudate outside the wall; G. There are abundant organelles in canal cell of connate area than in that of separation area; H. There are abundant exudates at intercellular space of canal cell in connate area.

Chl:叶绿体 Chloroplast;D:高尔基体 Dictyosome;Ex:分泌物 Exudate;IcS:胞间隙 Intercellular space; M:线粒体 Mitochondrion;Pr:多聚核糖体 Polyribosome;Pu:突起 Protrusion;RER:粗糙内质网 Rough endoplasmic reticulum;S:淀粉粒 Starch grain;V:液泡 Vesicle;W:壁 Wall.

图2 油茶柱头和花柱的超微结构

Fig. 2 Ultrastructure of the stigma and style in *C. oleifera*

3 讨论

油茶开花当天雌蕊已完全成熟,此时柱头表面充满明显的液体分泌物,为典型的湿型柱头。在烟草^[15]、百合^[4]和大豆^[16]等植物中,也观察到成熟雌

蕊柱头活跃的分泌细胞外产生并释放渗透物。根据对大量植物柱头类型的研究报道,湿型柱头分为有乳突和无乳突两种类型^[17]。在本研究中,从柱头纵切面结构看,可观察到油茶柱头表面密布大量的乳突细胞,为湿柱头中的有乳突类型。油茶开花当天

的柱头有大量的分泌物覆盖在柱头表面,为花粉的附着、水合萌发提供了必要的基质,也在花粉与柱头的相互识别过程中起重要作用,特别是对远缘杂交和一些孢子体自交不亲和性植物研究尤为重要^[18-19]。油茶柱头观察到的分泌物是否为脂类物质以及分泌物中含有的具体成分还有待进一步研究。在油茶柱头细胞质中观察到含有液泡、叶绿体、线粒体、内质网等,发达的扩张内质网显示了与分泌作用相关。同时在柱头分泌面的壁观察到壁内突,这些都是典型的分泌细胞的特征。

花柱是支撑花粉管从柱头生长至子房的结构,也是配子体自交不亲和反应的发生部位。油茶花柱为开放型,具有中空的花柱道。与柱头相同,在本研究中也观察到油茶的开放型花柱中充满分泌物,即花柱道细胞也属于分泌细胞,这层特化的内表皮细胞也可称为通道细胞^[20]。在空心花柱植物中,花粉管沿着花柱通道生长,通道内表皮外聚集了大量分泌物,花粉管在分泌物中向下生长,花柱中的这些分泌物为花粉管生长提供了营养物质和引导花粉管定向生长^[21]。作者曾对油茶花粉管生长途径及双受精进程进行过详细报道^[13],观察到油茶花粉管在花柱中沿着中空的花柱通道细胞表面生长并进入子房,在对山茶属植物茶树(*Camellia sinensis*)的研究中^[22-23],也观察到花粉管在花柱中同样的生长情况。与花柱基本组织细胞相比,油茶的通道细胞在超微结构上表现为代谢活跃的细胞特征。细胞质中充满各种丰富的细胞器,包括线粒体、高尔基体、内质网等。在研究中,可以观察到细胞分泌物首先出现在细胞壁与质膜之间的区域,然后通过外排作用分泌至通道细胞间隙内。有学者研究报道^[24],植物的自交不亲和性遗传学特征和抑制部位之间有密切的关系,植物的花粉管抑制作用发生在子房中的一个共同特征是花柱为开放型,花粉管与花柱组织必须密切接触才能发生抑制作用。本研究组在油茶自交不亲和性研究中也发现^[12],油茶的自交不亲和反应发生在花柱基部接近子房处,具有后期自交不亲和性的特征。本研究中也发现花柱基部接近子房处的花柱通道是花柱中最窄的部位,此处的分泌物也是通道中最多的,整个花柱从柱头到子房表现为花柱道逐渐变窄、通道中的分泌物逐渐增多的特点。在配子体自交不亲和系统中,大多数不亲和的花粉在柱头萌发时不受影响,能够萌发产生花粉管并穿过柱头生长进入花柱,但在花柱中的不同部位停止

生长。花粉从柱头上吸水,在渗出液中开始萌发。如果亲和,则花粉粒萌发后花粉管进入柱头并伸长穿过花柱组织;如果不亲和,则雌蕊产生拮抗反应,花粉管生长受到抑制,在不同部位停止生长。外壁蛋白和内壁蛋白是花粉壁上存在的两类蛋白质物质,花粉与雌蕊之间的识别反应,正是基于花粉壁的蛋白质和柱头乳突细胞表面的蛋白质表膜之间的相互作用。花粉管的生长表现为胞质环流模式,当花粉管接触到液体物质时,外壁蛋白迅速释放,说明花粉壁蛋白作为识别因子,对花粉的接受或拒绝起到决定作用^[25]。有研究发现,花粉管在穿过柱头和花柱时,会诱导产生出一种花粉管转录体,说明雌蕊组织直接影响花粉管的基因表达水平^[26]。综合之前对油茶自交不亲和反应的研究结果,推测其花柱通道细胞分泌物成分能识别自身花粉管,进而抑制花粉管生长。这些分泌物的成分还有待进一步研究,如利用细胞化学的方法观察花粉和柱头的相互作用,利用高分辨透射电镜分析花粉壁蛋白在花柱何处结合及结合发生的时间。通过本研究对油茶花柱结构有了进一步的认识,而油茶自交花粉管在花柱中的不亲和性反应机制、花粉管死亡特征和花粉管-雌蕊的互作机理等研究将成为今后的重要研究方向。

4 结论

研究表明:油茶为湿型柱头,柱头乳突和花柱通道细胞为分泌型细胞,花柱分为离生区(占2/3)和合生区(占1/3)两部分,花柱中基本组织细胞结构单一,壁外无分泌物。整个花柱从柱头到子房花柱道逐渐变窄,各花柱道在基部相互连通形成狭小的缝隙,具有花柱通道细胞壁外分泌物和细胞内细胞质浓度、细胞器数量与种类逐渐增加的趋势和特点。

参考文献:

- [1] Bedinger P A, Broz A K, Tovar-Mendez A, et al. Pollen-pistil interactions and their role in mate selection[J]. *Plant Physiology*, 2017, 173(1): 79-90.
- [2] Gotelli M M, Galati B G, Medan D. Structure of the stigma and style in sunflower (*Helianthus annuus* L.)[J]. *Biocell*, 2010, 34(3): 133-138.
- [3] Takayama S, Isogai A. Self-incompatibility in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2005, 56(56): 467-489.
- [4] 胡适宜,朱 激,徐丽云. 王百合花柱通道细胞的细微结构的研究[J]. *植物学报*, 1982, 24(5): 395-402.

- [5] 王迎春,屠骊珠. 狭叶锦鸡儿花柱的超微结构观察[J]. 植物学通报,1994(S1): 36.
- [6] 王秀玲,高新起. 荞麦柱头、花柱的结构及 ATP 酶的超微细胞化学定位[J]. 西北植物学报,2002, 22(5): 1221 - 1224.
- [7] Liao T, Yuan D Y, Zou F, *et al.* Self-sterility in *Camellia oleifera* may be due to the prezygotic late-acting self-incompatibility [J]. PLoS ONE, 2014, 9(6): e99639.
- [8] Nasrallah J B, Nasrallah M E. Pollen-stigma signaling in the sporophytic self-Incompatibility response [J]. The Plant Cell, 1993, 5(10): 1325.
- [9] Thomas S G, Franklin-Tong V E. Self-incompatibility triggers programmed cell death in Papaver pollen [J]. Nature, 2004, 429(6989): 305.
- [10] Haring V, Gray J E, McClure B A, *et al.* Self-incompatibility: a self-recognition system in plants [J]. Science, 1990, 250(4983): 937 - 941.
- [11] 庄瑞林. 中国油茶(第二版) [M]. 北京:中国林业出版社, 2008.
- [12] 高超,袁德义,杨亚,等. 油茶自交不亲和性的解剖特征 [J]. 林业科学, 2015, 51(2): 60 - 68.
- [13] Gao C, Yuan D Y, Yang Y, *et al.* Pollen tube growth and double fertilization in *Camellia oleifera* [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2015, 140(1): 12 - 18.
- [14] 廖婷,袁德义,高超,等. 油茶授粉受精及早期胚胎发育 [J]. 林业科学, 2014, 50(2): 50 - 55.
- [15] 胡适宜,朱激. 被子植物有性生殖图谱 [M]. 北京:科学出版社, 2000.
- [16] 王学东,于洋,刘岩,等. 大豆花柱和柱头的显微结构观察 [J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(1): 7 - 11.
- [17] Heslop-Harrison Y, Shivanna K R. The receptive surface of the angiosperm stigma [J]. Annals of Botany, 1997, 41(6): 1233 - 1258.
- [18] Hiscock S J, McInnis S M. Pollen recognition and rejection during the sporophytic self-incompatibility response: Brassica and beyond [J]. Trends in Plant Science, 2003, 8(12): 606 - 613.
- [19] 律春燕,王雁,朱向涛,等. 黄牡丹与芍药组间杂交花粉与柱头识别的解剖学研究 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(10): 1988 - 1994.
- [20] 王艳杰,刘林德,孔冬瑞,等. 刺五加雌、雄花的花柱引导组织结构观察 [J]. 电子显微学报, 2011, 30(4-5): 460 - 465.
- [21] 陈妍,王玲丽,刘文哲. 授粉对烟草花柱引导组织结构的影响 [J]. 西北植物学报, 2016, 36(3): 486 - 492.
- [22] Chen X, Hao S, Wang L, *et al.* Late-acting self-incompatibility in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Biologia, 2012, 67(2): 347 - 351.
- [23] Wachira F N, Kamunya S K. Pseudo-self-incompatibility in some tea clones (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2005, 80(6): 716 - 720.
- [24] Brewbaker J L. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants [J]. Journal of Heredity, 1957, 48(6): 271 - 277.
- [25] Cheung A Y, Wu H M. Structural and signaling networks for the polar cell growth machinery in pollen tubes [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008(59): 547 - 572.
- [26] Qin Y, Leydon A R, Manziello A, *et al.* Penetration of the stigma and style elicits a novel transcriptome in pollen tubes, pointing to genes critical for growth in a pistil [J]. PLoS Genetics, 2009(5), e1000621.

Microstructure and Ultrastructure Characteristics of Stigma and Style of *Camellia oleifera*

GAO Chao^{1,3}, YANG Rui², GUO Qi-qiang¹, YUAN De-Yi³

(1. Institute for Forest Resources & Environment of Guizhou, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 3. Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-Wood Forest Trees of Ministry of Education and the Key Laboratory of Non-Wood Forest Products of State Forestry Administration, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hu'nan, China)

Abstract: [**Objective**] To investigate the structural characteristics of the stigma and style of *Camellia oleifera* at the microscopic and ultramicroscopic levels and provide a theoretical basis for elucidating the cytological mechanism of breeding self-incompatibility reactions in *C. oleifera* style, while at the same time to establish a theoretical foundation for hybrid breeding of *C. oleifera*. [**Method**] Using the pistil of *C. oleifera* on the day of blooming as the experimental material, the microscopic and ultramicroscopic structural characteristics of *C. oleifera* stigma and styles were observed to study them from a cytological perspective using cytological method. [**Result**] The pistil of *C. oleifera* is composed of an intact stigma, style, and ovary. *C. oleifera* has a wet stigma. The papillary cells are densely distributed on the receptive surface. They are densely arranged with concentrated cytoplasm and abundant organelles. Abundant secretions are presented among papillary cells. Generally, there is less content and fewer organelles in tissue cells, the cell wall is thinner, and there are no secretions outside the cell wall. The style of *C. oleifera* is composed of 3 – 5 independent styles. The upper 2/3 of the style are separated from each other, whereas between the lower 2/3 and the base of style they begin to fuse. Each style of *C. oleifera* is hollow and composed of an epidermis, parenchymal tissue, and the inner surface of the style duct. The area outside the style duct cells is filled with large amounts of secreted mucous substances. The cells are more organized and larger than those in the parenchymal tissue, have dense cytoplasm, and have characteristics of glandular cells. The style duct becomes gradually denser from top to bottom with continuously decreasing gap size. At the base of the style, the style ducts fuse with each other, forming a small cavity. [**Conclusion**] The microscopic and ultramicroscopic structural characteristics of the stigma and style of *C. oleifera* is analyzed. The cells of the stigma papilla and style duct are secretory cells. The parenchymal tissue cells in the style have a uniform structure. The style duct gradually narrows from the stigma to the ovary. In the base of the style, each style duct fuses with each other to form a small cavity. It is characterized by the substances secreted by the style duct cell wall, cytoplasmic density, and a gradually increasing tendency in the number of types of organelles.

Keywords: *Camellia oleifera*; stigma; style; microstructure; ultrastructure

(责任编辑:张 研)