2002 年 5 月

西瓜胚乳衰退过程中的超微结构变化 及其对胚发育的作用

王秀玲,高新起

(曲阜师范大学生物系,山东曲阜 273165)

摘 要: 西瓜胚乳细胞衰退过程中、质膜、液泡膜突起、形成体积较大的囊泡、内质网断裂形成体积较小的囊 泡;细胞质和细胞核降解形成电子致密的碎片沿细胞壁分布;细胞壁在衰退过程逐渐变薄、由于部分区域分 解而使整个壁呈波浪型,细胞降解后的物质可直接穿越薄壁处或通过宽约 50 nm 的胞间连丝向近胚端的胚 乳细胞转移。胚乳与珠心组织分界壁一胚囊壁上有发达的壁内突、有利于珠心组织内的物质向胚乳内转运; 胚乳发育早期与胚共有的壁上内外两侧均有胼胝质沉积、壁上无外连丝型的胞间连丝存在、胚乳发育后期共 有壁上的胼胝质消失、胚乳细胞降解物可穿越共有壁进入胚细胞内。实验结果表明西瓜胚乳在发育后期对胚 的发育具有重要的作用。

关键词:西瓜;胚乳;衰退:超微结构 中图分类号:Q944.57 文献标识码:A 文章编号:1000-3142(2002)03-0242-04

The ultrastructure changes of endosperm during degeneration process and its function to development of embryo in watermelon

WANG Xiu-ling, GAO Xin-qi

(Department of Biology, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

Abstract: The endosperm of watermelon(*Citrullus lanatus*) begins to degenerate from micropylar end to chalazal end at the stage of heart-shaped embryo. At first, plasmalemma, vacuoles membrane and endoplasmic reticulum disintegrate into many cisterns. Then most of the electronic-dense remnants locate near cell walls become thinner during cells degeneration. Some remainders directly traverse through the thinner wall or by plasmodesmatas and migrate to another cell near the embryo. There are many wall ingrowths in the boundary wall between endosperm and degenerated nucellus, which is benefit to the material transport from degenerated nucellus to endosperm. At the stage of small global embryo, the deposition of discontinuous calloses which have intense fluorescence in the boundary wall between endosperm and embryo indicates that the endosperm maybe have not any functions in feeding embryo at early stage of embryo development. But when endosperm cells near embryo degenerate, calloses disappear and some remnants of degenerated cells migrate into embryo cells, which shows endosperm playing an important role in supporting the rapid development of embryo at late development stage of embryo.

Key words: watermelon; endosperm; degeneration; ultrastructure

收稿日期: 2001-05-08

作者简介: 王秀玲(1971-), 女, 山东陵县人, 硕士, 讲师, 从事植物发育生物学的研究工作。

前文已报道了西瓜胚囊的胚乳吸器对胚乳本 体的发育具有哺育作用⁽¹⁾。西瓜在受精后形成的胚 乳细胞,当胚进行活跃生长的同时自珠孔端向合点 端逐步衰退和解体,预示着这两种发育进程相反的 组织之间具有一定的生理上的依存关系。对于衰退 组织中的物质以何种形式和途径进入相邻的组织, 在不同的材料上研究结果不一致^(2~5)。我们对西瓜 胚乳本体与相邻组织(珠心、胚)分界壁的结构、胚 乳细胞衰退过程的超微结构变化以及细胞内容物 的撤退方式进行了光镜和电镜观察,以期为探讨胚 乳这种短命组织的存在意义提供资料。

1 材料与方法

实验材料为西瓜中熟品种"金钟冠龙",温室育 苗,露地栽培。从开花后第7d开始,每天上午7:00 ~9:00取胚珠用4%戊二醛固定4h,缓冲液冲洗, Epon812环氧树脂渗透和包埋。电镜观察的材料经 2%戊二醛固定2h后,用1%锇酸后固定,乙醇系列 脱水,环氧丙烷置换,Epon812树脂包埋,LKB-7800 超薄切片机上切片,醋酸双氧铀一柠檬酸铅双染 色,JEM-1200透射电镜观察照相。用作荧光观察的 塑料切片用 0.005%的苯胺蓝(1/15 M 磷酸缓冲液 配置)(pH9.0)染色 30 min,Olympus 荧光显微镜观 察。

2 观察结果

西瓜胚乳发育属核型,游离核胚乳在球胚早期 自胚囊的珠孔端向合点端及由内向外细胞化(图版 II:5)。在胚开始分化子叶和子叶迅速生长的过程 中,胚乳细胞自珠孔端向合点端退化。

2.1 胚乳细胞衰退过程中的结构变化

细胞质:与胚细胞相比,退化前的胚乳细胞体 积较大、塑料切片的材料经 PAS—TBO 双染后,观 察到胚乳细胞质比胚细胞质稀薄(图版 I:1,2)。细 胞质中含有大量的细胞器,如质体、线粒体、内质网 等(图版 II:3,4)。在开花后 10 d 的材料上(心型胚 期),电镜观察到胚周围的几层胚乳细胞开始出现 退化现象。离胚相对较远、靠近胚囊壁的一层胚乳 细胞细胞质不均一,一些内质网断裂形成片段、部 分质体解体,但线粒体的结构完整,并具有发达的 嵴(图版 II:1)。紧靠胚的二层胚乳细胞,内质网断裂 成无数的体积较小的囊泡,质膜、液泡膜向细胞质 内突起形成体积较大的囊泡(图版 II:2)。开花后 12 d(心型胚晚期),离胚最近的 1~3 层胚乳细胞的大 部分空间近似电子透明,细胞质和细胞核降解后的 物质凝集成电子致密的、大小不等的碎片贴壁分 布,但仍能分辨出线粒体的轮廓(图版 II:3,4、图版 I:5),可见线粒体是最后被降解的细胞器。

细胞壁:随着衰退程度的增加,胚乳细胞壁逐 渐变薄,并呈厚薄相间的波浪型。开花后 10 d,在胚 周围 1~2 层胚乳细胞之间的壁上,厚壁处的壁厚平 均约为 2 200 nm,薄壁处的壁厚平均为 1 000 nm (图版 II:2)。开花后 12 d 离胚最近的第 1 和第 2 层 胚乳细胞之间的壁,厚壁处壁厚平均约为 500 nm, 薄壁处壁厚平均为 200 nm;在第 2 和第 3 层胚乳细 胞之间的壁上,厚壁处的壁厚平均约为 1 400 nm, 薄壁处壁厚平均约为 500 nm。(图版 II:3,4)。有些 区域的薄壁处出现了宽约 50 nm 的胞间连丝(图版 II:4)(正常胚乳组织中的胞间连丝宽度小于 10 nm)。衰退胚乳细胞内的降解物直接穿过细胞壁和 通过这些胞间连丝进入相邻的胚乳细胞(图版 II:3, 4,5)。

2.2 胚乳与相邻组织分界壁的结构

2.2.1 胚乳与珠心组织分界壁的结构 用希夫试剂染色后观察到胚囊壁和胚囊外退化的珠心细胞 呈强烈的 PAS 正反应(图版 I:1,2),表明珠心细胞 降解物主要以多糖的形式存在。在胚发育的各个时 期,胚囊最外层的胚乳细胞均有发达的胚囊壁内 突,电镜观察到胚囊壁内突处有丰富的的脂体、线 粒体、质体、内质网等,部分质体内积累多糖物质形 成了淀粉粒(图版 I:2,4)。

2.2.2 胚乳与胚分界壁的结构 在胚发育的早期 (小球胚期),在胚的基部和顶部,电镜下观察到最 外层的胚和胚乳细胞相邻壁的内外两侧均有不连 续的物质沿壁沉积(图版 I:3,4),荧光显微镜下观 察到这种物质发出强的黄绿色的荧光,因此推断其 为胼胝质。而在胚发育的后期(心型胚期),胚乳细 胞开始衰退后胚和胚乳相邻壁上的胼胝质消失,一 些胚乳细胞降解后的无定形物穿过相邻壁进入胚 细胞(图版 I:5)。但在胚乳细胞发育的各个时期都 没有观察到共有壁上有外连丝型的胞间连丝存在 (图版 I:3,4,5)。 3 讨 论

3.1 胚乳细胞退化和物质撤退的方式

植物生长发育过程中有多种短命的器官或组 织以不同的方式在特定的时期主动退化,这种器 官、组织的细胞主动衰退的现象被称之为"编程性 细胞死亡",一般认为其原因主要是细胞的特定基 因表达的结果^(6,7)。关于细胞衰退的方式,在不同的 实验材料上的观察结果不一致。小麦的珠心⁽³⁾和莱 莉花瓣衰退细胞⁽⁴⁾呈明显的泡状化;Matile Ph.等⁽⁵⁾ 还发现线粒体是由液泡膜包围并吞噬的;小麦反足 细胞⁽²⁾和西瓜珠心细胞衰退过程中则是细胞质逐渐 稀疏,并不表现出泡状化。西瓜胚乳细胞衰退过程 中,质膜、液泡膜、内质网等都会降解形成大小不一 的囊泡,线粒体在较晚的时候降解成电子密度较大 的碎片,但没有观察到液泡膜消解线粒体的现象。

西瓜衰退的胚乳细胞内容物撤退方式有2种: (1) 直接穿越细胞壁。这在正常的组织细胞内是不 可能的,推测可能同小麦衰退反足细胞²²一样是由 于细胞壁微纤丝的结构变松散而增加了细胞壁的 通透性。(2)通过特定的通道。张伟成等在小麦衰退 反足细胞和珠心细胞内均观察到一些仍具有基本 结构的细胞器如核物质、内质网片段、质体、线粒体 等直接由宽度 200~400 nm 的"胞质通道"进入相 邻细胞^[2.3]。西瓜衰退胚乳细胞内观察到较薄处的壁 上有类似通道,但测定其宽度大约为 50 nm,仅是正 常胚乳细胞间胞间连丝的 5~10 倍,比"胞质通道" 窄的多。目前已有大量的实验证明大分子物质可以 直接通过胞间连丝进行胞间转移^[8-9],并且用显微注 射法研究发现植物细胞在某些条件下可以调整胞 间连丝的通透性,如缺氧胁迫和受到病毒侵染后, 小麦根细胞印和番茄叶肉细胞印的胞间连丝通透 性分别增加 5~10 倍和 10~20 倍。因此作者认为按 照娄成后印2的观点将这种胞间连丝称之为"开放型 的胞间连丝"更确切些。西瓜胚乳衰退细胞的开放 型胞间连丝和松散的细胞壁结构,使得解体后的大 分子物质较容易地由远胚端的胚乳细胞向近胚端 的胚乳细胞运输,并最终为胚的发育提供物质供 应。

3.2 胚乳的功能

西瓜幼胚没有明显的胚柄,在胚发育的整个过

22 卷

程中均没有观察到胚囊珠孔端的胚细胞与珠心组 织的分界壁上有壁内突(另文发表),推测胚直接从 胚囊外的珠心组织中吸收营养物质的能力较小。因 此胚发育过程中除了卵细胞自身贮存的物质外,胚 乳对其具有重要的哺育作用。但在西瓜胚和胚乳发 育早期,有大量不连续的胼胝质沉积在胚与胚乳共 有壁上,而且胚与胚乳的相邻壁上也没有外连丝型 的胞间连丝存在,使胚和胚乳形成了两种相互隔离 的组织,限制了胚对外源物质的摄取,表明在西瓜 胚发育早期其营养物质的主要来源是来自于卵细 胞,而不是靠胚乳提供。我们观察到西瓜胚乳在整 个发育过程中有以下特点与其吸收和运输功能相 适应:(1)西瓜胚囊合点端具有胚乳吸器,使胚乳能 从胚囊外的珠心组织吸收营养物质11,使降解后的 珠心组织内容物暂时贮存在胚乳组织中。(2)西瓜 胚乳与珠心组织的分界壁上有发达的壁内突,有利 于胚乳细胞从衰退的珠心细胞中吸收物质。(3)胚 乳细胞化。从理论上讲,游离核形式的胚乳比细胞 化的胚乳更有利于物质的吸收和运输,但多种植物 的胚乳在发育过程中细胞化,并在细胞化后迅速退 化,西瓜也是如此。Newcomb^[13]认为胚乳细胞壁的 形成可能是胚乳贮存多糖物质的形式之一,在胚的 后期这些多糖物质分解供胚发育用;席湘媛141认为 除此之外,胚乳细胞壁的形成可能还具有支持胚 体、保持胚体的位置的作用。另外,在西瓜胚与胚乳 分界壁上虽没有观察到有外连丝型的胞间连丝存 在,但观察到了胚乳发育后期细胞降解后的物质直 接进入最外层的胚细胞中。由此可见,对于西瓜胚 乳的功能可以概括为:西瓜胚乳既是"库",又是 "源",在胚发育的早期从衰退的珠心组织中吸收物 质并加以贮存;在胚发育的后期则将贮存的物质分 解并以特定的方式运输至胚,供胚发育。

参考文献:

- 〔1〕王秀玲,高新起,张恒悦,西瓜胚乳吸器的发育及 ATP 酶超微细胞化学定位[J],西北植物学报, 2001,21(2):301-305.
- 〔2〕张伟成, 严文梅, 娄成后.小麦颖果中反足细胞衰退 过程的变化极其对胚乳形态建成的作用[J]. 植物学 报, 1988, **30**: 457-462.
- [3] 张伟成, 严文梅, 娄成后. 小麦衰退珠心中解体原生 质向胚囊的迁移极其对增殖中反足细胞的哺育[J].

245

植物学报,1984,**26**:11-18.

- 〔4〕李宪章,侯建忠,邵莉楣,等.紫茉莉花衰败过程中的生理生化及细胞学变化[J].植物学报,1994,36
 (2):116-122.
- (5) Matile Ph. Winkenbach F. Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing coralla of the morning glory[J]. J. Exper Botany. 1971. 22: 759 - 771.
- [6] 翟中和. 细胞生物学[M]. 北京:高等教育出版社.1996. 370.
- [7] Yan Xu. Maureen R Hanson. Programe cell death during pollination-induced petal senescence in petunia[J].
 Plant Physiology. 2000. 122: 1 323-1 333.
- [8] Lucas WJ. Gilbertson RL. Plasmodesmata in relation to viral movement with in leaf tissues[J]. Annu. Rev Phytopathol. 1994. 32: 387-411.
- [9] Fujiwara T. Giesman-Cookmeyer D. Ding B. Cell-cell trafficking of macromolecules through plasmodesmata

potetiated by the red clover necrotic mosaic virus movement protein[J]. *Plant Cell*. 1993. **5**: 1783-1794.

- [10] Cleland RE, Fujiwara T. Lucas BJ. Plasmodesmalmediated cell-to-cell transport in wheat roots is modulated by anaerobic stress [J]. Protoplasma, 1994, 178: 81-85.
- [11] Ding B. Li Q. Nguyen L. et al. Cucumber mosaic virtus 3a protein potentiates cell-to-cell trafficking of CM-VRNA in tobacco plants [J]. Virology. 1995.
 207: 345-353.
- 〔12〕娄成后. 植物体内原生质的连续性[J]. 植物学报. 1995-**37**(4): 182-222.
- [13] Newcomb W. The development of the embryo sac of sunflower after fertilization [J]. Can. J. Bot. 1973, 51: 879-890.
- 〔14〕席湘媛. 菘兰胚和胚乳的发育及营养物质的组织化学[J]. 植物学报, 1993, 35(1): 35-43.

图版说明

Em-胚; En-胚乳; ER-内质网; D-高尔基体; L-脂体; Mt-线粒体; N-细胞核; P-质体; W-细胞壁; WI-壁内突。

图版 I 1~2 为光镜照片 · PAS-TBO 双染色 · 其余照片均为电镜照片 。1. 球胚期正进行细胞化的胚乳 · 示体积较大、细胞质较稀薄的胚乳细胞 (注意: 胚囊中央的空白部分为还没有细胞化的胚乳部分) · ×132 · 2. 胚乳与珠心组织分界壁上发达的壁内突 (箭头) · 注意胚囊外解体的珠心细胞和胚囊壁呈强烈的 PAS 正反应 · ×264 ; 3. 小球胚期胚与胚乳分界壁上不连续的胼胝质 (箭头) · ×15 000 ; 4. 小球胚期胚囊壁内突 · 注意壁内突附近大量的脂体、线粒体、质体 · ×3 600 ; 5. 胚周围的胚乳细胞衰退时 · 胚与胚乳分界壁上的胼胝质消失 · 箭头示胚乳细胞解体后的物质穿过最外层的胚细胞壁 · ×15 000 。

图版 II 心型胚期胚乳细胞的衰退过程 1~2 为开花后第 10 d 的胚乳细胞。1. 胚囊珠孔端的胚乳细胞质变稀疏、不均 一,示解体的质体、断裂的内质网和结构完整的线粒体,×9 000; 2. 与胚相邻的胚乳细胞内质网断裂成囊泡,小箭头示质膜、 液泡膜突起,大箭头示大分子物质直接穿越细胞壁,×9000: 3~4 为开花后第 12 d 的胚乳细胞,细胞核和细胞质解体后形成 的碎片贴壁分布。3. 离胚最近的第 1 层和第 2 层胚乳细胞及它们间的细胞壁,示穿越细胞壁的物质增多(大箭头)×9 000; 4. 离胚最近的第 2 层和第 3 层胚乳细胞及它们间的细胞壁.示解体后的物质通过开放型的胞间连丝进入相邻的胚乳细胞(大· 箭头)×14 400.

Explanation of Plates

Em-Embryo; En-Endosperm; ER-Endoplasmic reticulum; G-Dictysome; L-Lipid; M-Mitochondrion; N-Nucleus; P-Plastid: W-Wall; Wl-Wall ingrowth.

Plate I Photographs of Fig. 1~2. are light micrographs, the others are electron miCrographs. Fig. 1. Endosperm cells at stage of global embryo, $\times 132$. Fig. 2. Showing the wall ingrowths in embryo sac and disintegrated nucellus cells, $\times 264$. Fig. 3. Deposition of discontinuous callose (big arrow) having intense fluorescence in the boundary wall between endosperm and embryo. $\times 15$ 000. Fig. 4. The wall ingrowths and degenerated nucellus cells at stage of small embryo, $\times 3$ 600. Fig. 5. Remainders of degenerated endosperm cell traversing the wall of embryo (big arrow), $\times 15$ 000.

Plate II Degeneration of endosperm cells The photographs of Fig. $1 \sim 2$. are endosperm cells at 10 d after flowering. Fig. 1. The endosperm cell near embryo sac wall, showing the mitochondrions. endoplasmic reticulums and disintegrating plastids \times 9 000. Fig. 2. The endosperm cell near embryo, showing the materials traversing through the thinner wall (big arrow), \times 9 000. Fig. $3 \sim 4$. The endosperm cells at 12d after flowering. Fig. 3. Showing the electronic-dense remnants near wall and materials traversing through wall (big arrow), \times 9 000. Fig. 4. Showing the remainders traversing wall by plasmodesmatas, \times 14 400.