

绞股蓝果实的发育解剖学研究

王庆亚, 张守栋, 孙建云, 李扬汉

(南京农业大学生命科学院, 江苏南京 210095)

摘要: 应用石蜡切片和扫描电镜的方法, 观察了绞股蓝果实与种子的发育过程, 结果表明: 花后 12 d 左右, 绞股蓝合子开始进行第一次分裂, 极核分裂在花后 6~7 d, 核型胚乳在胚的发育中被吸收, 胚的发育为茄型, 外珠被呈网格状花纹。假果, 表面有蜡质, 果壁可明显分为 3 层, 内侧细胞后期解体, 种子倒三角形, 表面瘤状突起。脱落花果的结构表现为珠被萎缩和胚发育受阻。

关键词: 绞股蓝; 种子和果实; 发育解剖

中图分类号: Q944.59 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)04-0323-04

Anatomical studies on the fruit development of *Gynostemma pentaphyllum*

WANG Qing-ya, ZHANG Shou-dong, SUN Jian-yun, LI Yang-han

(College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The development process of seeds and fruits of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino has been observed by wax slice and scanning electron microscope. The results showed that zygotes of *Gynostemma pentaphyllum* began its mitosis 12 days after anthesis. Polar nucleus began mitosis 6~7 days after anthesis. The nucleus-type endosperm has been absorbed during the embryo development. The developmental type of embryo was solanad type. Outer integument was with gridding stripe, its fruit was false fruit with wax on the surface of its pericarp. There were three layers in its pericarp, and those cells in inner part disaggregated at the late phase of development. The shape of seed was obtrigon with strumae on its surface. The integument was atropic and the development of embryo was blocked in absciss flowers and fruits.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum*; seed and fruit; developmental anatomy

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*)隶属于葫芦科绞股蓝属的多年生草质藤本植物。全世界已知该属植物有 17 种, 我国产 15 种, 其中有 11 种为中国特有种(吴征镒等, 1983; 陈书坤, 1995)。从 70 年代中期开始, 因发现其含多种人参皂甙(Gypenoside, GP)而引起了国内外植物学家特别是药学家的重视。其总皂甙含量高于人参, 有抗疲劳, 降血脂, 催眠, 抗衰老等多种功效, 临床上运用于治疗 20 多种恶性肿瘤。前人对绞股蓝的化学成分、药理学和

毒理学, 临床应用与栽培等方面进行了研究, 笔者曾对其大小孢子发生、雌雄配子体发育进行了较细致的观察, 而对果实及种子的发育尚未见有系统报道(叶能干, 1991), 目前, 由于过量采集, 绞股蓝的野生资源不断减少(刘文亮, 1988), 需要人工栽培, 这需要了解果实和种子生长发育规律。本文从光镜和电镜水平上较系统地研究了绞股蓝果实及种子发育过程, 以期对绞股蓝的高产栽培和品种选育提供发育解剖学资料。

收稿日期: 2002-11-26 修订日期: 2003-01-20

基金项目: 江苏省应用基础项目(BJ99033)

作者简介: 王庆亚(1960-), 江苏涟水人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事资源植物教学与研究。

1 材料与方 法

1.1 材料

研究材料采自南京栖霞山,在开花以后先每隔 1 d,3 d 以后每隔 3 d 采集不同发育时期的花蕾和果实 30 个,经卡诺氏固定,置 70% 酒精保存。

1.2 实验方法

FAA 固定,爱氏苏木精整染,常规石蜡切片,厚度 6~8 μm ,OLYMPUS BH-2 显微镜下观察并摄影,扫描电镜观察是将绞股蓝的种子与果皮粘贴在扫描电镜样品台上,真空喷金镀膜,最后在 S-450 型扫描电镜下观察并摄影。

2 结 果

2.1 种子的发育解剖

2.1.1 胚的发育 胚是由卵细胞与精子融合形成的合子发育而成的。绞股蓝的合子形成之后,并不立即分裂,而需要经过一段时间的休眠。合子在休眠期发生了许多显著的变化。合子的液泡缩小,细胞的体积也随之缩小,在分裂前的合子只有原来卵细胞的一半,这种缩小发生在细胞的合点端,结果原来在合点端分布的细胞器变为集中在核的周围。在受精前合点端无壁或细胞壁是不完全的,而受精以后则变为被连续的较厚的壁所包围(图版 I :1)。在花后 10 d 左右,合子开始进行第一次分裂,绞股蓝合子的第一次分裂为不对称的横分裂,形成较小的靠近合点端的顶细胞和较大的靠近珠孔端的基细胞(图版 I :2)。合子第一次分裂后,很快顶细胞和基细胞各进行一次横分裂,而形成四细胞原胚(图版 I :3)。以后,原胚经多次分裂,发育成棒状或不同大小的球状(图版 I :4~6)。接着,球形的顶部变宽(图版 I :7),两侧分裂加快,形成心形胚(图版 I :8),进一步发育为成熟的胚。在球形胚时,胚柄明显可见,心形胚形成以后,胚的发育加快,大约在花后 50 d 左右,胚已发育成具有两片厚而肥大的子叶,能清楚的看到胚芽,胚轴,胚根,子叶的分化(图版 I :13)。

2.1.2 胚乳的发育 极核受精以后所形成的初生胚乳核的分裂速度比合子快,分裂比合子早(图版 I :2)。在花后 4~6 d 左右,有的胚囊已出现 2 或 4 个游离胚乳核。胚乳发育属于核型(图版 I :3)。当合

子分裂时,胚囊中液泡扩大,游离核被挤到周边,在受精以后 20 d 左右的时间内,胚乳一直处于游离核状态。球形胚后期,胚乳游离核逐渐分化为胚乳细胞,但在胚囊中央仍存在大液泡(图版 I :6)。胚乳的这种变化是从珠孔端到合点端。在心形胚早期,所形成的胚乳细胞充满胚囊,胚乳细胞可再进行分裂,使厚度渐渐增加(图版 I :7)。

胚乳细胞同四周的珠心细胞很容易区别。胚乳细胞细胞质丰富,而珠心细胞体积相对较大,细胞内含物少,并且在胚乳和胚的发育过程中,珠心细胞开始解体,细胞分离,出现皱缩现象。

在胚的发育过程中,珠心细胞不断解体,最后只残留一小部分,胚乳细胞大约在心形胚以后,逐渐开始解体,供给胚营养物质。胚发育后期,胚乳被胚吸收。有的仅在两个子叶的顶部之间存少量残余胚乳。

2.1.3 种皮的发育 种皮由珠被发育而成,绞股蓝的内外珠被紧贴,共约有 7~9 层细胞(图版 I :9)。随着幼果的发育,珠被细胞经过分裂,细胞层数增加到 10~12 层,分裂后产生的细胞,体积逐渐增大,在花后 35 d 左右,珠被细胞达到最大值。随着果实的渐趋成熟和胚的逐渐长大,内珠被的细胞壁开始出现皱缩,细胞质减少。外珠被的表面呈乳突状,表皮下的几层细胞壁次生加厚(图版 I :10),壁厚呈网格状花纹(图版 I :11),颜色逐渐加深(图版 I :12),厚壁细胞内为薄壁细胞,在扫描电镜下,可见种子表面瘤状突起(图版 I :14),呈波纹状和低丘状(图版 II :1),石细胞圆形,细胞腔小(图版 II :2),种皮坚硬。

2.2 果壁的发育解剖

绞股蓝开花前夕,子房内胚珠的胚囊发育大约处于八核阶段,为成熟的雌配子体。绞股蓝子房下位,开花时,果壁的结构为 15~20 层细胞(图版 II :3)。细胞等径,细胞间贯穿有多数维管束。绞股蓝的果壁可明显分为外层,中层,内层。

果壁外层由外表皮和邻近的下层组织构成。绞股蓝在开花时,果壁的表皮层表现为染色较深,细胞排列紧密的单层细胞组成。在花期的表皮上,保卫细胞分化不明显,难以识别气孔。细胞排列紧密,随着果皮的发育,细胞不断长大,外壁角质化,明显可见表皮毛、普通表皮细胞和气孔器,细胞进行垂周分裂,扩大表面积,富含细胞质,染色较深。外切向壁上的角质膜随果实的发育而逐渐变厚,表皮同其它的组织可以明显地区分(图版 II :4)。

表皮下的数层扁平的细胞是下皮组织。开花初期,下皮组织大约有 2~3 层细胞。经过平周分裂和垂周分裂,增至 4~6 层(图版 II:5)。在 8 月中旬,细胞体积增大,并在靠近表皮下 3~4 层细胞的壁角隅处渐渐加厚,细胞内含有大量叶绿体,厚角组织下的 3~4 层细胞,切向方向显著伸长(图版 II:6)。

果壁的中层主要由具有大液泡的薄壁组织细胞和贯穿其间的一些维管组织组成。细胞约 20~30 层,有明显的胞间隙,由于各个方向连续的细胞分裂,果壁中部的细胞数增加很快。在果实发育的中后期,即 8 月下旬至 9 月上旬,增大的速度最快,幼果时期细胞内有叶绿体(图版 II:6)。

果壁内层由内表皮和 2~3 层细胞组成,细胞较小。

其内表皮细胞在花后早期近方形。以后,随着果实的发育,细胞分裂,生长,体积明显增大。特别是在切线方向上,细胞增长显著。果壁靠近内表皮的数层细胞较小,体积比内皮层细胞稍大,细胞质较浓,在后期有一定程度的伸长。到后期,内表皮的细胞和靠近内表皮的多层细胞解体而被种子吸收(图版 II:7)。

在果实的上半部有一个圆圈,为花萼和花瓣脱落后留下的痕迹。果实的表面存在明显的蜡质(图版 II:8)。

2.2.3 绞股蓝脱落花的果的解剖特征 绞股蓝在花期和果期都存在脱落现象。早期脱落的花,外形正常,子房较小,子房内的两个胚珠早已萎缩,珠心中无胚囊分化(图版 II:9),部分珠心组织过早解体。后期脱落的果实,有的为胚发育到一定时期后,不再生长,细胞染色加深(图版 II:10)。有的胚囊界限模糊(图版 II:11),有的胚囊内容物退化消失(图版 II:12)。

3 总结和讨论

(1) 绞股蓝胚乳发育比胚早,为核型胚乳,在胚的发育过程中被吸收,仅留下残余。胚的发育从 2-细胞原胚, T-型原胚以及球形, 心型原胚直到成熟胚, 与 Davis(1966) 综述葫芦科的报道相同, 但也存在不同之处, 表现为绞股蓝无胚乳吸器。葫芦科植物中具胚乳吸器的植物的胚乳多为核型, 常常是在合点端发展成为管状, 末端进入合点区域起吸器作用而成为胚乳吸器, 大多数是维持游离核状态。绞

股蓝的胚囊在受精后就开始伸长, 其后, 胚囊伸长延至胚珠中央。到原胚形成初期, 胚囊伸长得更为迅速, 几乎已经达到合点端, 但始终未见胚乳吸器出现。这可能是伸长的胚囊不断吸收珠心的营养, 代替了吸器的功能。此外, 绞股蓝胚的发育为茄型, 这在葫芦科中也极为少见。

(2) 绞股蓝在开花受精以后, 合子休眠约 1 周左右, 进行第一次分裂, 继而子房和胚及胚乳都迅速分裂。8 月份种子生长迅速, 子房膨大, 这个时期正是胚的发育期。胚的发育变化对绞股蓝的果实发育有重要影响, 因为在果实的增大过程中, 种子的各部分都在不断生长和发育, 而胚的发育状况对座果率以及果实后期的发育有重要影响。在果实的增大过程中, 种子的各部分都在不断地生长和分化, 因此加强绞股蓝果实发育期的栽培管理, 前期适当多施氮肥可以促进细胞分裂, 加速胚形成, 提高座果率, 后期则应重视磷肥、钾肥和锌肥的使用, 促进果实的饱满和减少脱落, 以获得高产。

(3) 绞股蓝的子房内常形成 2~3 个胚珠, 可同时受精发育。但是幼小的种子发育一段时间后, 其中一个或两个败育, 表现为整个胚珠收缩, 发育受阻, 细胞结构模糊, 这可能是由于养分供应不足形成的。因为绞股蓝的种子占整个果实的比例大, 部分种子败育将有利于其它发育的种子获得足够的营养, 发育充实、饱满, 有利于下一代孢子体的形成和发育。

(4) 绞股蓝的果实在发育过程中, 内表皮细胞和靠近内表皮的果肉细胞不断解体, 最后基本消失, 只剩下厚壁组织。种皮外侧细胞表面成乳突状, 表皮下细胞强烈厚壁化, 呈网格状, 使种子非常坚硬, 虽对种子具保护作用, 但是不利种子萌发, 萌发种子整齐度差, 这种特征可能与其野生特性有关, 有利于物种的生存。从而要求在绞股蓝种子萌发时, 种皮需进行处理, 以便提高萌发率, 并使出苗整齐。

参考文献:

- Chen SK(陈书坤). 1995. A Classificatory System and Geographical Distribution of the Genus *Gynostemma* BL. (Cucurbitaceae)(绞股蓝属植物的分类系统和分布)[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), 33(4): 403—410.
- Davis GL. 1966. Systematic embryology of the angiosperms [M]. New York: John Wiley and Sons Inc, 35.
- Liu WL(刘文亮). 1988. Resource and Ecology of *Gynostem-*

- ma pentaphyllum* (Thunb.) Mskino in Jiangsu (江苏绞股蓝的资源及生态)[J]. *Nanjing College of Traditional Chinese Medicine* (南京中医学院学报), 4(1): 42-43.
- Wu ZY (吴征镒), Chen SK (陈书坤). 1983. A Study on the Genus *Gynostemma* BL. (Cucurbitaceae) from China (中国绞股蓝属(葫芦科)的研究)[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), 21(4): 355-369.
- Ye NG (叶能干). 1991. A Study on the Morphology and Anatomy of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mskino. II Anatomical Characters in Reproductive Organs of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mskino (绞股蓝生殖器官的解剖特征)[J]. *Journal of Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学), 16(5): 19-22.

图版说明

- 图版 I** 1. 受精后的合子(✓), ×600; 2. 合子横分裂, 形成顶细胞和基细胞(✓), ×350; 3. 顶细胞横分裂, 基细胞横分裂形成四细胞原胚(✓), ×600; 4~5. 球形原胚, 胚乳为游离核, ×600; 6. 球形原胚, 胚乳分化为细胞, ×300; 7. 球形原胚进一步发育, 两侧分裂加快, ×300; 8. 心型原胚, ×300; 9. 胚珠横切, 示外珠被发育, 内珠被退化(✓), ×250; 10. 表皮下细胞壁次生增厚(✓), ×250; 11. 外珠被表皮下几层细胞壁增厚呈网状(✓), ×250; 12. 石细胞进一步增厚, 在瘤状突起处层次多(✓), ×250; 13. 成熟胚, 有胚根、子叶(✓)、胚轴、胚芽, ×50; 14. 扫描电镜下, 绞股蓝种子外形, ×30.
- 图版 II** 1. 扫描电镜下, 绞股蓝种皮上瘤状突起, ×120; 2. 扫描电镜下, 绞股蓝种皮上石细胞, ×1000; 3. 子房横切, 示果皮结构(箭头示表皮), ×600; 4. 子房横切, 示开花时子房壁结构(箭头示表皮), ×250; 5. 子房横切, 示各层细胞形态结构(箭头示表皮), ×250; 6. 子房横切, 示下皮组织(✓)和中果皮, ×250; 7. 子房横切, 示内果皮和中果皮解体(✓), ×60; 8. 扫描电镜下, 示绞股蓝果皮, 存在蜡质(✓), ×600; 9. 败育雌蕊, 胚珠收缩(✓), ×120; 10. 幼小胚结构模糊(✓), ×300; 11. 胚囊内物质粘连(✓), ×600; 12. 胚囊内物质消失(✓), ×300.

Explanation of Plates

- Plate I** 1. Zygote after fertilization, (✓), ×600; 2. Transvision of Zygote, forming an apical cell and basal cell (✓), ×350; 3. Apical and basal cell both divided transversely, and formed four-cells proembryo (✓), ×600; 4~5. Globular proembryo, endosperm with free nucleus, ×600; 6. Globular pro-embryo, endosperm consist of cells, ×300; 7. Globular pro-embryo further develop, ×300; 8. The stage of heartlike embryo ×300; 9. Transverse section of Ovule, showing development of outer integument and degeneration of inner integument (✓) ×300; 10. Thickening of Cell Wall of low part of outer integument (✓), ×250; 11. Thickening of Cell Wall of several layers of outer integument present reticulation (✓), ×250; 12. Stone Cells thicken further, around Papilla, having many Stone Cells (✓), ×250; 13. Matural embryo, having hypocoty, cotyledon(✓), radicle and plumule, ×50; 14. SEM photograph of the shape of *Gynostemma pentaphyllum* seed, ×30.
- Plate II** 1. SEM photograph of papilla of seed capsule, ×120; 2. SEM photograph of Stone Cells of seed capsule, ×1000; 3. Transverse section of Ovary, showing the structure of Pericarp (arrow-head showing epidermis), ×600; 4. Transverse section of Ovary, showing the structure of Pericarp abloom (arrow-head showing epidermis), ×250; 5. Transverse section of Ovary, showing morphological structure of cells of Layers (arrow-head showing epidermis), ×250; 6. Transverse section of Ovary, showing hypodermis tissue (✓) and mesocarp, ×250; 7. Transverse section of Ovary, showing the degeneration of endocarp and mesocarp (✓), ×60; 8. SEM photograph of showing pericarp having waxiness (✓), ×600; 9. Degenerating pistil, Ovule becoming smaller (✓), ×120; 10. Obscure structure of Young embryo (✓), ×300; 11. Adhesion of materials in embryosol (✓), ×600; 12. Disappearing of materials in embryosol (✓), ×300.