

# 天竺葵成熟胚囊的超微结构研究

国凤利<sup>①</sup> 孟繁静 胡适宜  
(生物学院) (北京大学生命科学学院)

**摘 要** 天竺葵的成熟胚囊由七个细胞组成。卵细胞含有各种细胞器,其中质体和线粒体丰富,另外还存在高尔基体、粗面内质网、核糖体和微管。质体的形状多样,有球形、棒状或不规则长形,具管状或泡状的内膜结构,基质电子密度较低,多数质体中含有一个或几个淀粉粒。线粒体的体积较大,在切面上多呈环状,其基质电子透明区含有明显的 DNA 纤丝。在卵细胞的合点端,其质膜与中央细胞的质膜之间发生局部分离,形成了明显的膨大间隙,间隙中存在许多泡状结构。在助细胞中,珠孔端存在明显的由壁内突形成的丝状器,细胞质中含有丰富的粗面内质网、高尔基体和线粒体。内质网叠堆成平行排列或同心环状,有些末端膨大,形成了球形的电子致密体。中央细胞的极核周围存在大量淀粉粒,细胞质中有线粒体、高尔基体及粗面内质网。在珠孔端卵器周围,与珠心组织相邻的中央细胞壁形成了发达的指状壁内突。这些细胞的超微结构特征与其所执行的生理功能是相关的。

**关键词** 胚囊; 超微结构; 天竺葵

**中图分类号** Q942

## Ultrastructure Studies of the Mature Embryo Sac in *Pelargonium*

Guo Fengli Meng Fanjing Hu Shiyi  
(College of Biology) (College of Life Science, Peking University)

**Abstract** The constituent cells of the mature embryo sac in *Pelargonium hortorum* Bailey were studied using transmission electron microscope. The egg cell contains plenty of organelles such as plastids, mitochondria, rough endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and microtubules. Most of the organelles distribute toward the chalazal half of the cell. Plastids are less electron-dense and starch-containing, they appear circular, elliptical irregular elongate and contain tubular or vesicle-like innermembrane system in sections. Mitochondria in the egg cell are giant and appear ring-like. They contain prominent DNA filament in the transparent areas. At the chalazal end of the egg cell, the plasma membrane separate from the plasma membrane of the central cell at intervals to form a series of islands between the egg and central cells. There are plenty of vesicles of about 80~250 nm in diameter in the areas of the islands. Apart from numerous mitochondria and Golgi apparatus, a great deal of RER are stacked in parallel or circular forms in the synergid cells. Some electron dense bodies of about 1  $\mu$ m in diameter developed at the end of

收稿日期: 1996-01-08

<sup>①</sup>国凤利,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

the RER. In the central cell, many starch granules have been formed around the polar nuclei. Mitochondria, Golgi apparatus and RER exist in the cytoplasm. Numerous finger-like wall ingrowths of transfer cell type have developed at the micropylar end of the central cell.

**Key words** embryo sac; ultrastructure; *Pelargonium hortorum*

关于被子植物胚囊的结构虽然已经积累了相当多的资料<sup>[1~4]</sup>。但随着被子植物受精生物学研究的进展,胚囊中涉及配子融合的结构或部位即受精的靶区,已经引起了许多研究者的关注。1984年,Dumas等人提出了雌性生殖单位的概念,意指胚囊中参与双受精过程的助细胞、卵细胞和中央细胞形成一个统一的结构和功能单位<sup>[5]</sup>。对这一单位的研究,将对揭示被子植物的受精机理具有重要意义。10年来,由于对被子植物胚囊的研究难度较大,有关的资料一直很少<sup>[6,7]</sup>。本研究着重观察了天竺葵成熟胚囊中卵细胞、助细胞和中央细胞的超微结构,并对它们的功能进行了分析。

## 1 材料和方法

供试材料为北京常见的天竺葵(*Pelargonium hortorum* Bailey),种植于北京大学生物系温室,取刚开放但尚未传粉的花朵,将胚珠从子房中剥出后在合点端切去约1/3(便于固定液和包埋剂的渗入),迅速放入4%戊二醛(pH7.2,二甲胍酸钠缓冲液配制)固定4~6h,同种缓冲液清洗3次,每次约0.5h。然后用2%锇酸在室温下固定2h,放入9℃冰箱中过夜。固定的胚珠用同样缓冲液清洗,系列乙醇脱水,经环氧丙烷置换,环氧树脂Epon 812中渗透和包埋。用作光镜观察的材料在Leitz-1512型切片机上切成约2μm的厚切片,高碘酸-锡夫试剂(PAS)和甲苯胺蓝(TBO,pH4.4)双重染色<sup>[8]</sup>,Olympus显微镜观察和照相。用于透射电镜观察的样品在LKB-V型超薄切片机上用钻石刀切片,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色,JEM-100CX透射电镜观察、照相。

## 2 观察结果

### 2.1 成熟胚囊的一般形态和结构

在光镜下可见天竺葵胚囊的珠孔端为由一个卵细胞和两个助细胞组成的卵器,它们呈品字形排列,合点端有体积较小的三个反足细胞,胚囊的中央大部分空间为中央细胞所占据(图1,2)。卵细胞梨形,具一明显的珠孔端大液泡,细胞核及大部分细胞质均靠合点端,细胞质中含淀粉粒(图1)。两个助细胞的形状相似,它们与卵细胞有相反的极性,核和细胞质偏向于珠孔端,而合点端具一大液泡(图2)。中央细胞的细胞质中含大量淀粉粒,两个极核在靠近卵器的位置,有的胚囊中两极核合并为一大的次生核。与珠心相邻的中央细胞壁呈强烈的PAS正反应(图1,2)。

### 2.2 卵细胞

在超微结构上,卵细胞的细胞质中含各种细胞器,包括质体、线粒体、高尔基体、粗面内

质网、核糖体及有少量微管分布在合点端壁的附近。除一个大液泡外,在细胞质中还有一些小液泡(图 3~5)。粗面内质网和高尔基体主要存在于周边细胞质中,高尔基体的附近有许多分泌小泡(图 3b)。质体和线粒体丰富,集中分布于细胞核的周围。质体形状多样,有球形、棒状及不规则形,具管状或泡状内膜结构,基质电子密度较低,多数质体含有淀粉粒(图 3a)。线粒体的体积巨大,在切面上多为环状,基质电子透明区中含明显的 DNA 丝(图 6)。质体和线粒体的这些特征与精细胞中的不同,据此可进一步研究受精作用中雄性细胞质是否传递的问题。

在卵器的合点端,卵细胞与中央细胞的质膜局部发生分离,形成了特别明显的膨大间隙。这些间隙中存在成堆的小泡,有的被小泡所充满(图 3~5),小泡多为单层膜包被,直径为 80~250 nm,内部电子透明。从图 3~5 可以看到,卵细胞中有粗面内质网和高尔基体与合点端质膜接近。间隙中大量小泡的形成与卵细胞细胞和中央细胞中高尔基体和内质网的活动有关。

### 2.3 助细胞

与已研究过的多数植物相似,天竺葵助细胞最明显的特征是存在由发达的壁内突形成的丝状器(图 7)。细胞核具不规则外突(图 8),细胞质中含丰富的线粒体、粗面内质网和高尔基体,质体数量较少(图 9)。线粒体为球形或棒状,集中分布于珠孔端丝状器的附近(图 7)。内质网叠堆呈平行排列或同心环状,有些电子密度较高(图 10)。细胞质中还存在一些直径约为 1  $\mu\text{m}$  的球形电子致密体,为单层膜包被,边缘电子透明,在有些切片上可以看到这些球状体与粗面内质网相连接,其被膜为单层的内质网膜(图 11,12)。在卵器的珠孔端,两个助细胞之间、助细胞与卵细胞及助细胞与中央细胞之间的壁上均存在胞间连丝(图 13)。

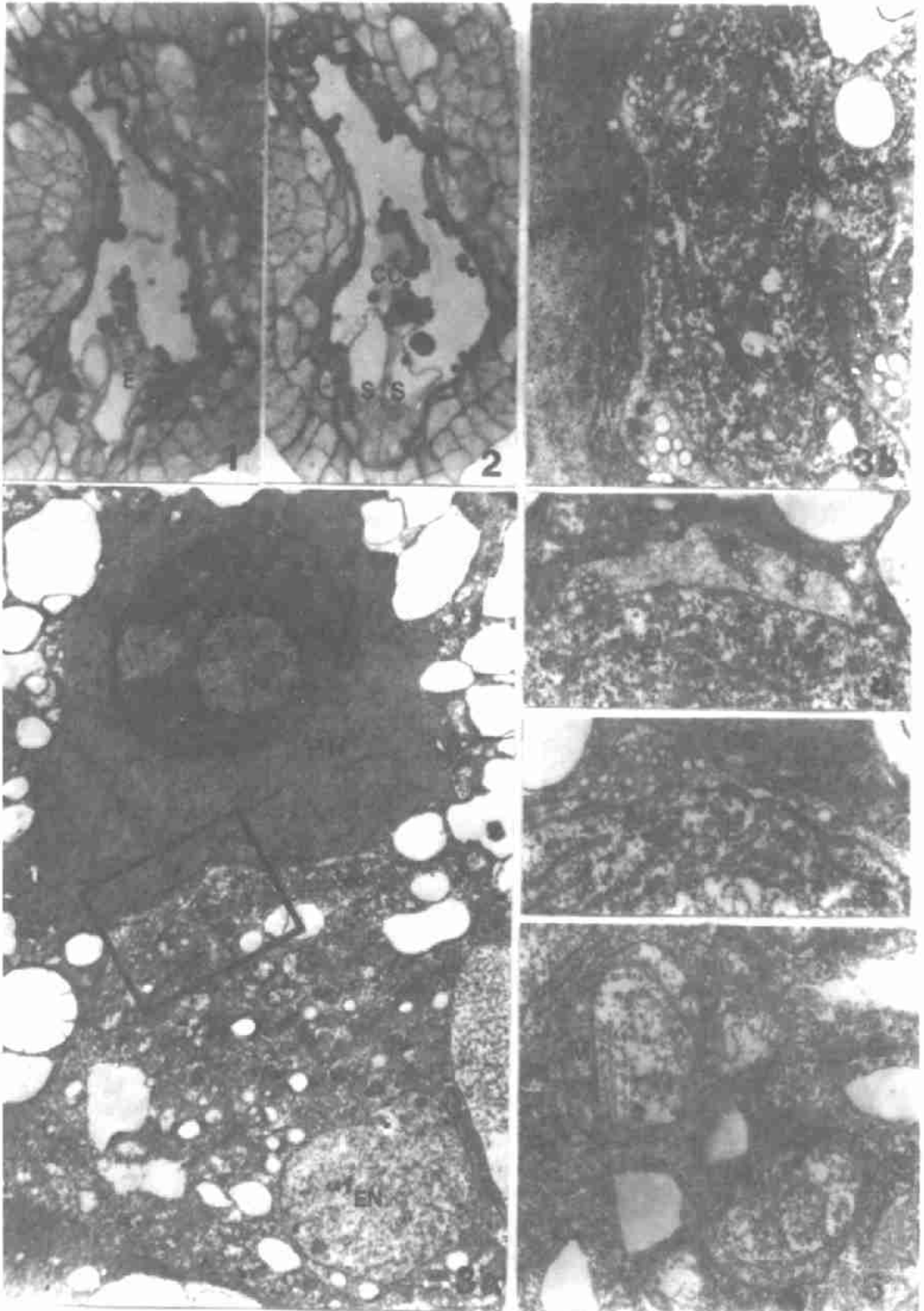
### 2.4 中央细胞

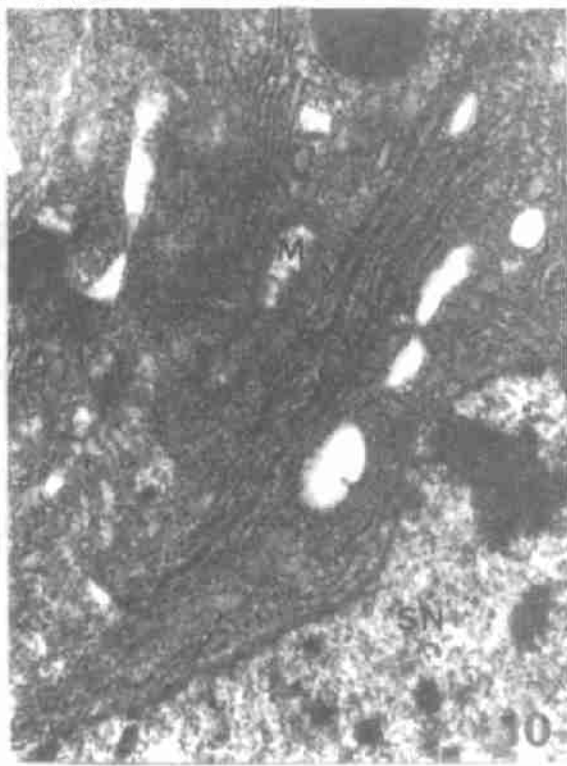
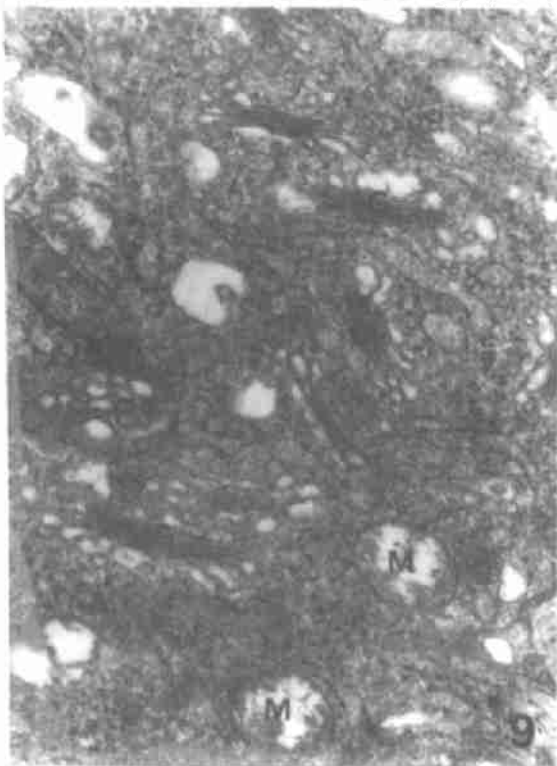
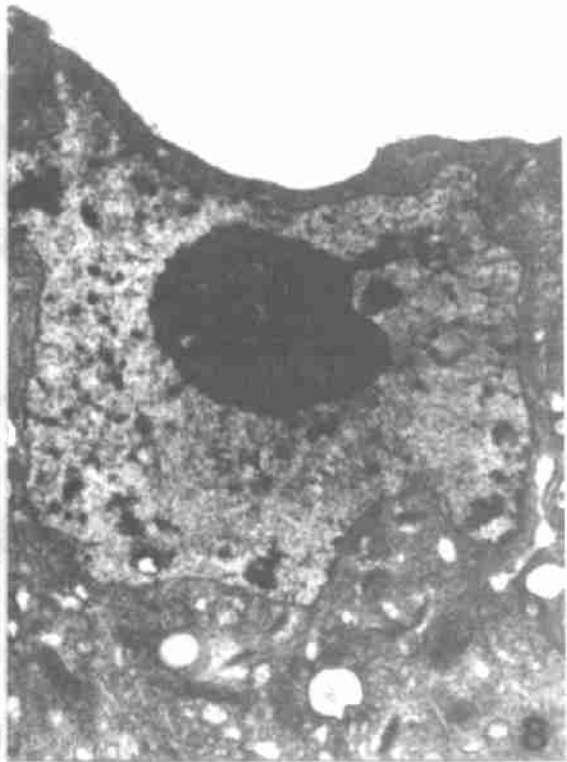
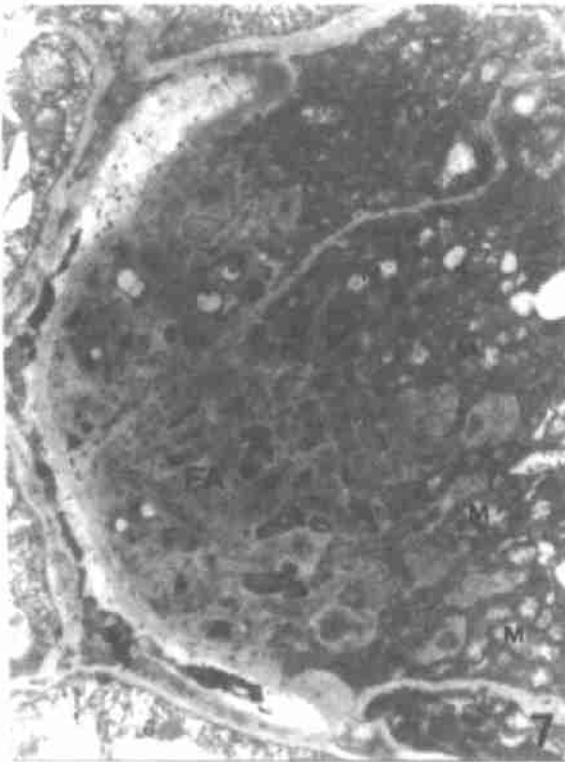
在光镜切片中可以看到中央细胞中存在许多淀粉粒,它们集中分布在极核的周围(图 1,2)。在超微结构上,细胞质中有丰富的线粒体、高尔基体、粗面内质网及少量脂滴。线粒体多为棒状,内嵴较发达,基质透明区有明显的 DNA 丝,高尔基体的周围有许多分泌小泡(图 14)。在珠孔端卵器附近,与珠心组织相邻的中央细胞壁形成了发达的指状壁内突(图 13)。

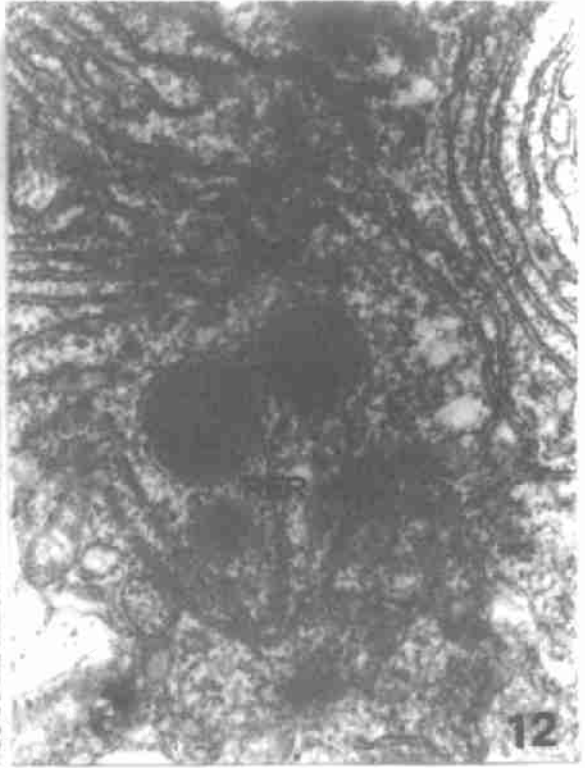
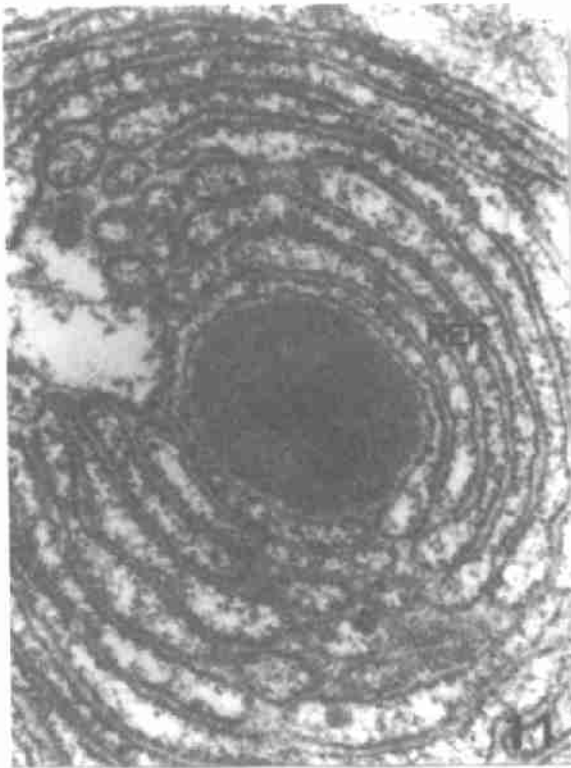
## 3 讨论

### 3.1 卵细胞

在超微结构上,多数植物卵细胞的细胞质中内质网和高尔基体的数量较少,表现为代谢不活跃,如棉花<sup>[9]</sup>、荠菜<sup>[10]</sup>、玉米<sup>[11]</sup>、矮牵牛<sup>[12]</sup>、向日葵<sup>[13]</sup>、菠菜<sup>[14]</sup>和拟南芥菜<sup>[15]</sup>,只有大豆<sup>[16]</sup>和白牡丹<sup>[17]</sup>的卵细胞中丰富的线粒体、粗面内质网及高尔基体表明了较强的代谢活性。在天竺葵中,卵细胞中丰富的细胞器不仅表明其代谢活跃,而且其中的大型杯状或环形线粒体是天竺葵属的显著特征<sup>[18]</sup>。Kuroiwa 等曾应用免疫电镜及定量细胞化学技术对马蹄纹天竺葵的研究表明,卵细胞中每个巨型线粒体的 DNA 量可达 4000 kb 以上,而珠心细胞中的线粒体 DNA 量仅 170 kb。认为卵细胞中每个线粒体中大量 DNA 的存在可能来自卵细胞成熟过程中 DNA 的迅速扩增,为原胚的发育所必需<sup>[19]</sup>。







12



14

**图版说明：**

A 反足细胞, CC 中央细胞, E 卵细胞, EN 卵细胞核, FA 丝状器, G 高尔基体, L 脂体, M 线粒体, P 质体, PN 极核, RER 粗面内质网, S 助细胞, SN 助细胞核, SG 淀粉粒, WI 壁内突

**图版 I**

1,2 成熟胚囊纵切面的半薄切片, PAS-TBO 染色。示卵细胞(1)、助细胞、中央细胞及反足细胞(2)。×500

3a 卵细胞和中央细胞部分电镜图像, 卵细胞中含有丰富的细胞器。×5 600

3b 卵细胞合点端部分放大, 示卵细胞与中央细胞质膜之间形成的膨大区域及其中的大量小泡。×16 500

4,5 卵细胞合点端部分, 注意卵细胞中与质膜相邻的微管。×17 000

6 卵细胞中的环形线粒体。×17 000

**图版 II**

7 助细胞的丝状器, 注意与其相邻的大量线粒体。×6 250

8 助细胞核。×8 000

9 助细胞中的各种细胞器, 示质体、线粒体及高尔基体。×30 600

10 助细胞中平行排列的叠堆粗面内质网。×20 200

**图版 III**

11 助细胞中同心环形的叠堆粗面内质网, 示其中央形成的电子致密体。×26 900

12 助细胞中的粗面内质网以末端膨大的方式形成电子致密体。×13 200

13 中央细胞珠孔端部分, 示指状壁内突。箭头指胞间连丝。×10 600

14 中央细胞中的细胞器, 注意高尔基体及其产生的小泡。×36 200

卵细胞周围的壁呈 PAS 正反应是一种普遍现象。在油菜中, 虽然卵细胞珠孔及合点端壁均呈 PAS 和 PA-TCH-SP 正反应, 但仅珠孔端有纤维素的存在, 卵细胞合点端与中央细胞之间可能是一种不定形物质而不会阻碍精细胞的传递<sup>[20]</sup>。在超微结构上, 油菜、大豆及白花丹等植物卵细胞的壁具有相似的特征, 即卵细胞合点端与中央细胞之间存在不连续的膨大区域及电子致密物, 膨大区域之间仅有两层质膜互相贴近。Russell 认为, 卵细胞和中央细胞之间作为受精的靶区, 其结构特征为一种“疏松连接”(modified junction), 这种特征的壁一方面保持卵细胞与中央细胞之间质膜的距离, 另一方面限制精子的流动性以利于配子融合<sup>[21]</sup>。Sumner 和 Van Caesele 则认为卵细胞与中央细胞之间的电子致密物可能具有连接卵细胞与中央细胞的作用, 使其保持为统一体<sup>[20]</sup>。在天竺葵中, 卵细胞合点端与中央细胞之间不仅存在膨大的间隙, 而且间隙中含有大量小泡, 但无电子致密物。作为配子融合的靶区, 卵细胞与中央细胞之间的膨大间隙增大了这两种雌性配子在该部位的质膜表面积, 可能有以下两方面的功能: ①便于精细胞的传递及配子识别; ②有利于卵细胞与中央细胞之间的物质交换。至于在其他一些植物中卵细胞与中央细胞之间的电子致密物, 可能是泡状结构的退化产物或属于退化助细胞来源的。有研究表明, 甜菜<sup>[22]</sup>和烟草<sup>[23]</sup>的退化助细胞可向合点端细胞间隙中产生退化的细胞质体, 这种现象一方面表明卵细胞与中央细胞之间的电子致密物可以来自退化助细胞, 同时也反映了受精前的卵器与中央细胞之间已不存在精细胞传递的障碍。

### 3.2 助细胞

助细胞最明显的结构为珠孔端细胞壁的增生,即丝状器(filiform apparatus),在丝状器的部位质膜的表面积大大增加.根据这一特征,一般认为助细胞属于传递细胞(transfer cell)类型,具有吸收营养物质和分泌向化性物质的功能<sup>[24]</sup>.同时,助细胞质中普遍存在丰富的细胞器,特别是线粒体、内质网、高尔基体和核糖体;在菖蒲莲属的 *Zephyranthes rosea* 中,应用组织化学方法显示了助细胞中含有大量的蛋白质、核酸和多种酶类<sup>[25]</sup>,这些资料均表明助细胞是生理活跃的细胞.在超微结构上,天竺葵助细胞核的形态以及细胞质中所含的大量细胞器与已研究过的多数植物相似,其中大量的平行排列或呈同心圆状的叠堆内质网是天竺葵助细胞的显著特点,并且这些粗面内质网以末端膨大的方式直接形成电子致密体.从形成方式看来,这些电子致密体可能是圆球体,在助细胞中作为贮藏物质.

Jensen 最早在棉花中发现了助细胞中积累大量的钙<sup>[26]</sup>.因为钙可吸引花粉管的生长<sup>[27]</sup>,所以助细胞中的钙可能对引导花粉管进入胚囊以及花粉管的停止和破裂均起重要作用.近来,应用 X 射线能谱微区分析及焦锑酸钾沉淀技术,在另外一些植物中均证明了助细胞较卵细胞和中央细胞具有明显高的含钙量<sup>[28,29]</sup>.本研究虽然没有涉及助细胞中钙的存在和分布,但从超微结构的观察发现,受精后胚囊的退化助细胞中存在许多晶体状结构<sup>[30]</sup>,可能是钙盐的结晶.至目前为止,助细胞中的高钙量已经证明是较为普遍的现象,但关于助细胞富集钙的机理以及钙在助细胞中的确切生理功能,是值得进一步研究的问题.

### 3.3 中央细胞

在已研究过的大多数植物中,中央细胞中不仅含有丰富的细胞器,而且在局部形成传递细胞型的壁内突.中央细胞壁的内突往往在珠孔端卵器的周围最为发达,如玉米<sup>[11]</sup>、小麦<sup>[31]</sup>、水稻<sup>[32]</sup>、向日葵<sup>[6]</sup>、大豆<sup>[16]</sup>和油菜<sup>[20]</sup>等.天竺葵的中央细胞同样在珠孔端卵器的周围形成了发达的指状壁内突,并且在此部位中央细胞与卵器之间有胞间联丝(图 13),表明由中央细胞吸收的营养物质可以通过共质体途径有效地传递给助细胞和卵细胞,同时也反映了雌性生殖单位的成员细胞之间在功能上的密切关系.

## 参 考 文 献

- 1 Kapil R N, Bhatnagar A K. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. Int Rev Cytol, 1981, 70: 291~341
- 2 Willemse M T M, Van Went J V. The female gametophyte. In: Johri B M ed. Embryology of Angiosperms. Springer-Verlag, Berlin, 1984, 159~196
- 3 Huang B Q, Russell S D. Female germ unit: organization, isolation, and function. Int Rev Cytol, 1992, 140: 233~293
- 4 Reiser L, Fischer R L. The ovule and the embryo sac. Plant Cell, 1993, (5): 1 291~1 301
- 5 Dumas C, Knox R B, McConchie C A, Russell S D. Emerging physiological concepts in fertilization. What's New in Plant Physiology, 1984, 15: 17~20
- 6 阎华, 杨弘远, Jensen W A. 向日葵胚囊的超微结构和“雌性生殖单位”问题. 植物学报, 1990, 32: 165~171
- 7 Yan H, Yang H Y, Jensen W A. Ultrastructure of the developing embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) before and after fertilization. Can J Bot, 1991, 69: 191~202
- 8 徐丽云, 胡适宜. 环氧树脂厚切片的染色. 植物学通报, 1986, 4: 108~110



- 9 Jensen W A. The ultrastructure and composition of the egg and central cell cotton. *Amer J Bot*, 1965b, 52:781~797
- 10 Schulz S R, Jensen W A. *Capsella* embryogenesis: the egg, zygote and young embryo. *Amer J Bot*, 1968b, 55:807~819
- 11 Diboll A G. Fine structural development of the megagametophyte in *Zea mays*. *Amer J Bot*, 1968, 53: 391~422
- 12 Van Went J L. The ultrastructure of the egg and central cell of *Petunia*. *Acta Bot Neerl*, 1970b, 19: 313~322
- 13 Newcomb W. The development of the embryo sac of sunflower *Helianthus annuus* before fertilization. *Can J Bot*, 1973, 51:863~878
- 14 Wilms H J. Ultrastructure of the developing embryo sac of spinach. *Acta Bot Neerl*, 1981a, 30:75~99
- 15 Mansfield S G, Briarty L G, Erni S. Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*: I. The mature embryo sac. *Can J Bot*, 1991, 69:447~460
- 16 Folsom M W, Peterson C W. Ultrastructural aspects of the mature embryo sac of soybean, *Glycine max*(L.) Merr. *Bot Gaz*, 1984, 145:1~10
- 17 Russell S D, Cass D D. Ultrastructure of fertilization in *Plumbago zeylanica*. *Acta Soc Bot Pol*, 1981, 50:185~190
- 18 胡适宜, 国风利, 罗玉英. 天竺葵质体和线粒体双亲遗传的细胞学机理——雄性和雌性配子超微结构和 DNA 荧光的研究. *植物学报*, 1994, 36:245~250
- 19 Kuroiwa H, Kuroiwa T. Giant mitochondria in the mature egg cell of *Pelargonium zonale*. *Protoplasma*, 1992, 168:73~82
- 20 Sumner M J, Van Caeseele L. The ultrastructure and cytochemistry of the egg apparatus of *Brassica campestris*. *Can J Bot*, 1989, 67:177~190
- 21 Russell S D. Fertilization in *Plumbago zeylanica*: gametic fusion and fate of the male cytoplasm. *Amer J Bot*, 1983, 70:416~434
- 22 Bruun L. The mature embryo sac of sugar beet, *Beta vulgaris*: a structural investigation. *Nord J Bot*, 1987, 7:543~551
- 23 Huang B Q, Russell S D. Fertilization in *Nicotiana tabacum*: Ultrastructural organization of propane-jet-frozen embryo sac in vivo. *Planta*, 1993, 191: 256~264
- 24 Gunning B E S, Pate J S. Transfer cell: Plant cell with ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solute —— their occurrence, structure, and development. *Protoplasma*, 1969, 68:107~133
- 25 Malik C P, Vermani S. Physiology of sexual reproduction: I. A histochemical study of the embryo sac development in *Zephyranthes rosea* and *Lagenaria vulgaris*. *Acta Histoch*, 1975, 53:244~280
- 26 Jensen W A. The ultrastructure and histochemistry of the synergid of cotton. *Amer J Bot*, 1965a, 52: 238~256
- 27 Mascarenhas J P, Machlis L. Chemotropic response of *Anthrhrinum majus* pollen to calcium. *Nature*, 1962, 196:292~293
- 28 Chaubal R, Reger B J. Relatively high calcium is localized in synergid cells of wheat ovaries. *Sex Plant Reprod*, 1990, 3:98~102
- 29 Chaubal R, Reger B J. Calcium in the synergid cells and other regions of pearl millet ovaries. *Sex Plant Reprod*, 1992a, 5:34~46
- 30 Guo F L, Hu S Y. Cytological evidence of biparental inheritance of plastids and mitochondria in *Pelargonium*. *Protoplasma*, 1995, 186, 201~207
- 31 You R L, Jensen W A. Ultrastructural observations of the mature megagamete —— phyte and fertilization in wheat (*Triticum aestivum*). *Can J Bot*, 1985, 63:163~178
- 32 董健, 杨弘远. 水稻胚囊的超微结构. *植物学报*, 1989, 31:81~88