

引用格式:

郭至辉, 李佩芳, 彭礼, 曾浩, 梁玲娇, 阮颖. 银扇草果实假隔膜的形态发育特征[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(3): 298–303.

GUO Z H, LI P F, PENG L, ZENG H, LIANG L J, RUAN Y. Morphological characteristics of the development of false dissepiment in *Lunaria annua*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(3): 298–303.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



银扇草果实假隔膜的形态发育特征

郭至辉, 李佩芳, 彭礼, 曾浩, 梁玲娇, 阮颖*

(作物表观遗传调控与发育湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 采用形态学和细胞学方法对银扇草果实假隔膜的形态、发育过程和显微结构特征进行初步研究。发现银扇草果实假隔膜起源于腹缝线假隔膜原基, 它的发育历经锥形期、延展期和成熟期 3 个时期; 假隔膜由表皮细胞和内层薄壁细胞构成; 锥形期假隔膜呈沙漏状, 薄壁细胞富含褐色小体; 延展期假隔膜呈杠铃状, 薄壁细胞逐渐解体, 形成较大的空腔; 成熟期假隔膜呈典型的线型结构, 薄壁细胞基本退化, 仅剩 2 层表皮细胞; 完全成熟的假隔膜近圆扇形, 表皮细胞排列有平行、倾斜、垂直等方式, 外壁具银色覆饰物; 银扇草果实的假隔膜极度发达, 随果实协同发育, 属背腹扁平型。发达的假隔膜的形可能成与银扇草果实较大、种子较少有关。

关 键 词: 银扇草; 果实; 假隔膜; 形态结构; 细胞学特征

中图分类号: S681.9; Q248

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2023)03–0298–06

Morphological characteristics of the development of false dissepiment in *Lunaria annua*

GUO Zhihui, LI Peifang, PENG Li, ZENG Hao, LIANG Lingjiao, RUAN Ying*

(Key Laboratory of Crop Epigenetic Regulation and Development in Hunan Province, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: In this study, morphological and cytological methodologies were applied to preliminarily study the cytogenesis, development and microstructural characteristics of the special morphology of the false dissepiment of *Lunaria annua*. It was found that the false dissepiment originates from the false dissepiment primordium on the ventral suture. Its development had embryonic stage, extension stage and mature stage. False dissepiments consist of epidermal cells and inner parenchyma cells. At embryonic stage, the false dissepiment shaped hourglassly and the parenchyma cells were rich in brown bodies, while false dissepiments was barbell shaped at extension stage, and the parenchyma cells gradually disintegrated, forming a large cavity. False dissepiments showed a typical linear structure at ripe stage, and the parenchyma cells basically degenerated, leaving only two layers of epidermal cells. The fully mature false dissepiments was nearly round-fan-shape, with epidermal cells arranged in parallel, inclined and vertical ways, and the outer wall was adorned with silver decorations. False dissepiments of *Lunaria annua* was extremely developed, and developed synergistically with the fruit, belonging to the flattened dorsally type. The formation of highly developed false dissepiment might be related to larger fruits and fewer seeds.

Keywords: *Lunaria annua* L.; fruit; false dissepiment; morphological structure; cytological characteristics

银扇草(*Lunaria annua* L.)是十字花科银扇草属 两年生草本植物^[1], 花冠十字形、紫红色, 果实圆

收稿日期: 2023–03–03

修回日期: 2023–05–19

基金项目: “十四五”国家重点研发项目(2022YFD1200400)

作者简介: 郭至辉(1999—), 男, 湖南郴州人, 硕士研究生, 主要从事植物形态及发育过程研究, 885539471@qq.com; *通信作者, 阮颖, 博士, 教授, 主要从事植物发育的表观遗传调控研究, yingruan@hotmail.com

扇形,是一种极具观赏价值的景观植物^[2]。银扇草角果纵径和横径相近,既不同于长角果(纵径远大于横径),也不同于短角果(横径大于纵径),而是呈近圆形。

有关银扇草的研究主要集中于种子脂肪酸组分^[3-6]、育种^[7-9]、核型研究^[10]、次生代谢产物分析^[11]等方面,对银扇草特殊角果形态形成和假隔膜发育过程的研究鲜有报道。本研究中,以银扇草果实为研究对象,采用形态学和细胞学的方法和技术,对其假隔膜的发生、发育过程进行研究,旨在阐明银扇草果实假隔膜形成的过程及特点,为进一步揭示特殊形态角果形成的分子机制及十字花科属种分类提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

银扇草种子来自于湖南农业大学作物表观遗传调控与发育重点实验室。2021 年 7 月播种于营养钵中,室外种植,定期施肥。于 2022 年 4 月花期时,根据果实的横径和纵径大小,采集不同发育阶段果实的子房。

1.2 方法

1.2.1 子房的形态观察与测量

用体视显微镜观察银扇草子房的形态。参照文献^[12]的方法,用游标卡尺测量子房的纵径和横径。

1.2.2 石蜡切片的制作与观察

取不同大小的银扇草子房制作石蜡切片。将样品在 70%FAA 固定液中固定 48 h 后进行抽取真空处理,再将样品置于 70%、85%、95%、100%的系列梯度浓度乙醇中进行脱水处理,用二甲苯透明后进行渗蜡和包埋处理,得到蜡块,4 °C 保存。将蜡块的边缘修整干净后连续切片(4 μm),蜡带置于恒温水浴锅内 5 s 后用载玻片捞出,甩干水分,置于烤片机上干燥。将载玻片浸入二甲苯溶液中,脱去石蜡,置入 100%、95%、85%、70%、50%、30% 系列梯度体积分数乙醇进行复水处理,浸入 1% 番红水溶液中染色 8 h,用 30%、50%、70%、85%、95% 系列梯度体积分数乙醇进行脱水处理,再浸入 0.1% 固绿-95% 乙醇溶液复染 10 s,经二甲苯脱去样品水分和乙醇后,使用中性树胶进行永久封片,得到目的切片。采用徕卡 DM 3000 LED 光学显微镜、Leica DM 3000 Fluo 荧光显微镜在 538 nm(N2.1)和

470 nm(GFP)波段下观察并拍照。运用 LAS X 和 Photoshop 对图像进行处理。

1.2.3 扫描电子显微镜观察

用刀片将银扇草果实的假隔膜切割成 5 mm×5 mm 大小,放在贴有导电胶的金属座上,抽取真空后,喷金镀膜,置于扫描电子显微镜下观察假隔膜超微结构。

2 结果与分析

2.1 银扇草果实假隔膜的发育过程及形态学特征

对不同发育时期果实及其假隔膜的形态进行观察及统计分析。结果显示:银扇草果实具典型角果特征,由两心皮合生子房发育而成;成熟后,果皮开裂脱落,假隔膜、花柱、腹缝线、子房柄宿存(图 1)。假隔膜随子房协同发育,其形态与果实形态一致。根据子房大小及纵横径比可将假隔膜发育过程划分为 3 个时期:雏形期(图 1-A、图 1-B),果实纵径是横径的 2~3 倍,果实形态近似长纺锤形;延展期(图 1-C、图 1-D),果实纵径为横径的 1.5~2.0 倍,果形近长椭圆形;成熟期(图 1-E),果实纵径为横径的 1.0~1.5 倍,果实近圆扇形。完全成熟的假隔膜具银色光泽,表皮光滑干燥,种柄宿存于假隔膜上,与腹缝线相连。



A、B 雏形期; C、D 延展期; E 成熟期; S 花柱; Fd 假隔膜; Vs 腹缝线; G 子房柄。

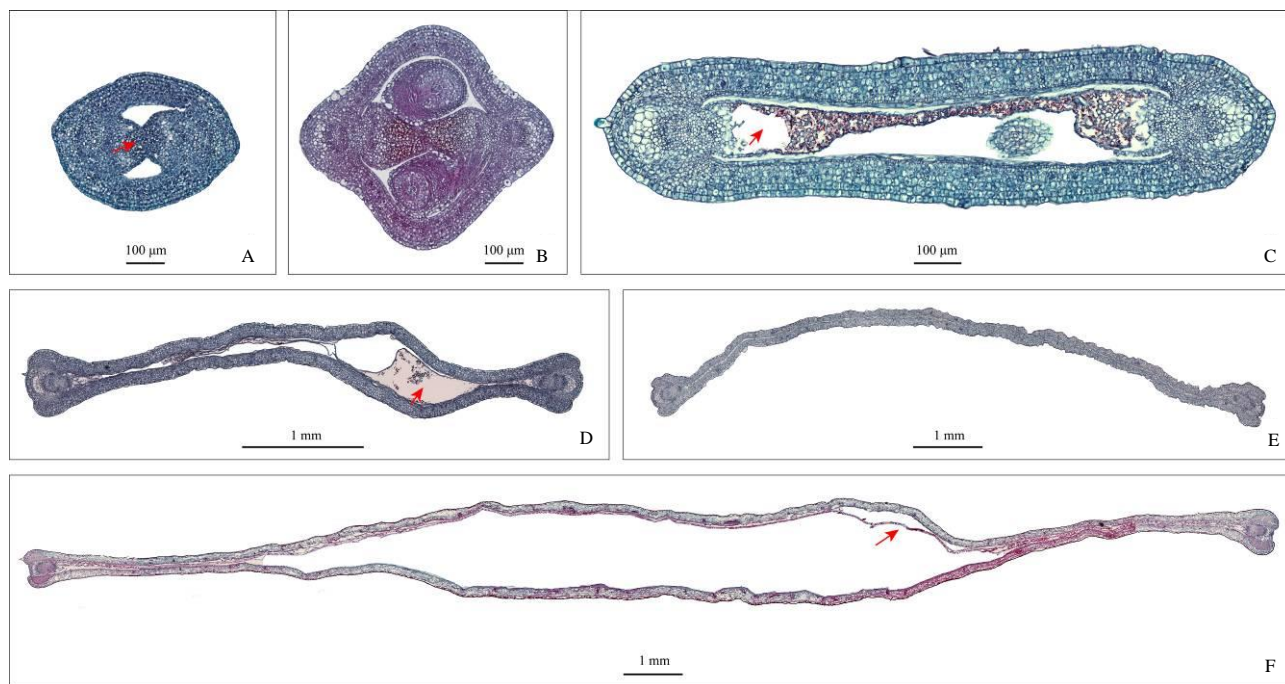
图 1 银扇草果实假隔膜的发育过程

Fig.1 The development process of false dissepiment

观察子房的横切面,发现假隔膜由腹缝线假隔膜原基向子房室内汇聚形成,随果实发育背腹两侧逐渐靠近,最终呈线型结构。雏形期,假隔膜呈沙漏状(图 2-A、图 2-B),由来自两侧的假隔膜原基生长向子房室内延伸,于子房中央汇合形成。延展期,随着子房壁/果皮的膨大及发育,假隔膜逐渐向腹缝线两侧延展,随着背腹逐渐靠近,假隔膜呈杠铃状,中央柄部细胞层数明显减少(图 2-C),两侧薄壁细胞也逐渐减少,形成明显的空腔(图 2-D)。成熟

期,随着子房壁/果皮的进一步发育,假隔膜极度延展,形成线型结构,柄部仅由 2 层细胞构成,假隔

膜内的薄壁细胞基本退化(图 2-E、图 2-F)。



A、B 锥形期(箭头示生长锥); C、D 延展期(箭头示空腔); E、F 成熟期(箭头示假隔膜)。

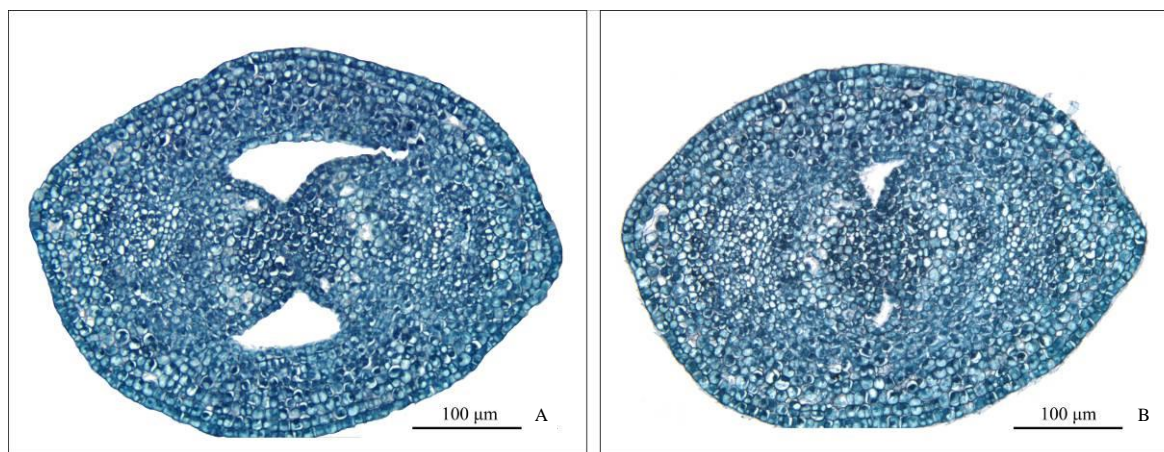
图 2 银扇草果实假隔膜发育过程的形态变化

Fig.2 The morphological changes during the development of the false dissepiment

2.2 假隔膜的起源

对花芽期的子房进行连续切片(图 3),从横切面上观察假隔膜的发生过程,发现心皮两侧腹缝线的胎座处和非胎座处均有假隔膜原基。子房中部假隔膜原基呈圆锥形,似生长锥,凸生于子房室内,在子房室中央假隔膜原基相互接触融合,形成假隔膜锥形(图 3-A)。原基顶部的细胞较小,细胞质浓厚,

细胞核相对较大,透光性较差,具备分生组织的特征;原基基部的细胞近圆形,较顶部的细胞大,整体颜色较顶部细胞浅。子房上部近花柱端的原基呈顶部扁平的短圆锥体,较中部的原基稍宽(图 3-B),总体长度明显小于中部原基,细胞类型及形态大小与中部的原基细胞无明显区别。



A 子房中部; B 子房上部近花柱端。

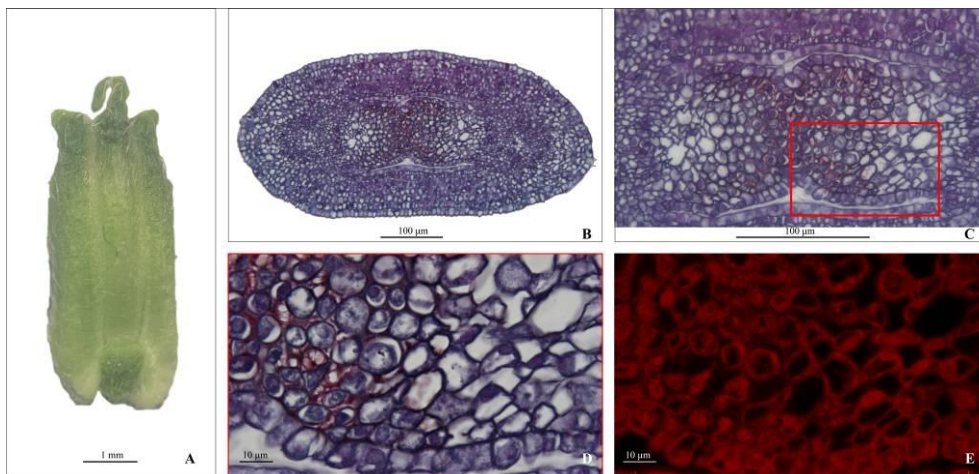
图 3 银扇草花芽阶段子房横切面的显微结构

Fig.3 Microstructure of cross section of ovary at bud stage

2.3 假隔膜的显微结构特征

锥形期假隔膜由单层表皮细胞和数层薄壁细胞组成(图 4)。表皮细胞形态相对规则,近方形,排列整齐(图 4-C)。内层细胞大致分为 2 种,分别位于锥形原基的顶部和基部,近假隔膜中央部分的薄壁细胞相对较小,近圆形,细胞核较大,细胞质较

浓,细胞内及细胞间有褐色物质的分布;假隔膜两侧基部的细胞形态不规则,呈圆形或多边形,体积相对较大,数量较多,液泡也较大,细胞质不浓厚(图 4-D)。在 538 nm 波长的绿色激发光下,假隔膜细胞自发红色荧光(图 4-E)。



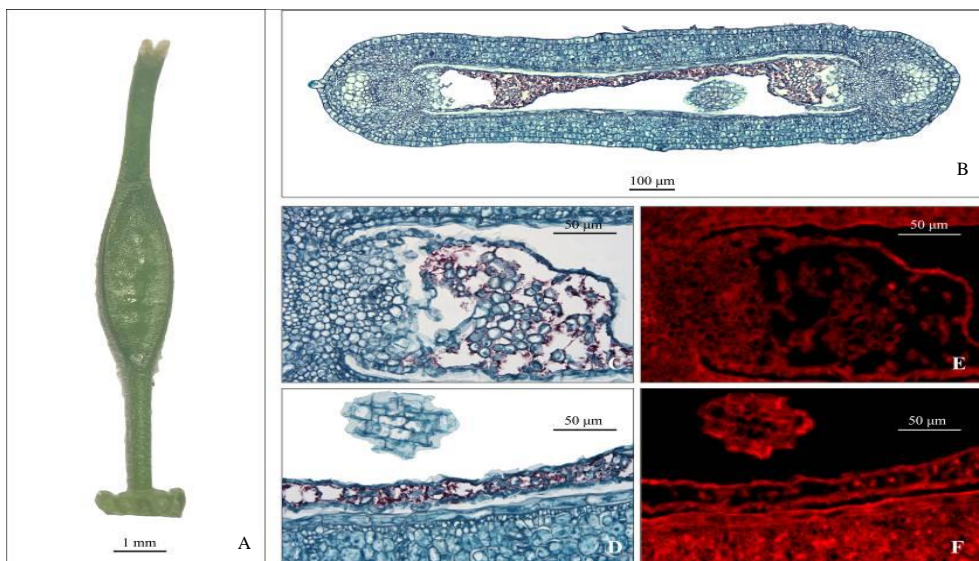
A 子房; B、C、D 分别为锥形期子房中部的横切面在光学显微镜下的显微结构; E 锥形期子房中部的横切面在 538 nm 绿色激发光下的显微结构。

图 4 银扇草果实锥形期假隔膜的显微结构及荧光特征

Fig.4 Microstructure and fluorescence characteristics of false dissepiment at embryonic stage

与锥形期的细胞相比,延展期的表皮细胞明显横向伸长,由方形变为长方形,细胞壁增厚。假隔膜两侧的薄壁细胞逐渐解体,形成较大的空腔,空腔内有细胞退化的痕迹(图5-C),未解体的薄壁细胞内有明显的褐色小体(图5-D)。中央部分假隔膜的细

胞层数明显少于两侧的,排列紧密。在 538 nm 波长的绿色激发光下,两侧假隔膜表层细胞的荧光信号明显强于内层薄壁细胞(图5-E),而中央部分假隔膜的荧光信号无明显变化(图5-F),荧光信号主要分布于细胞外壁上。



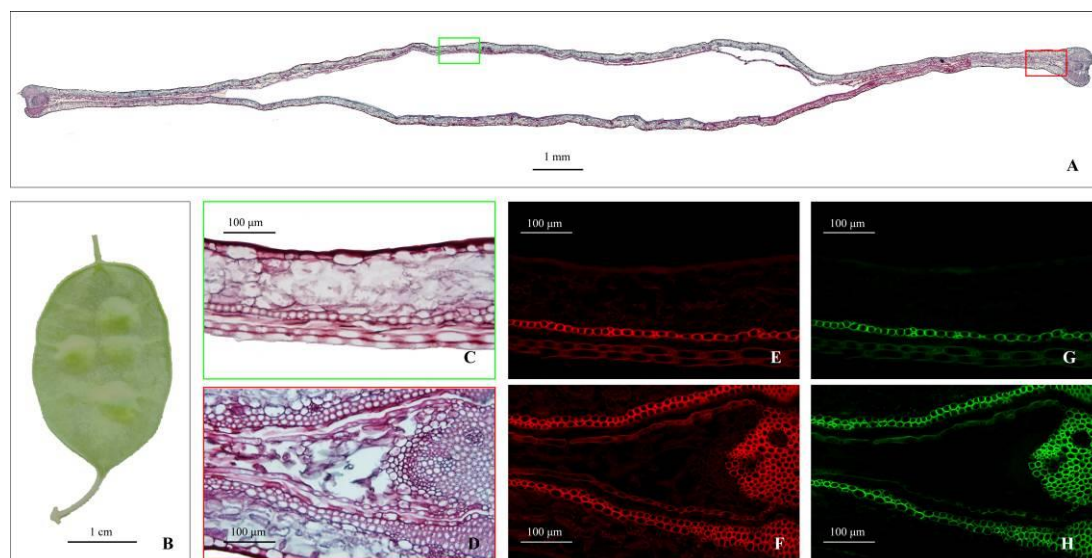
A 子房; B、C、D 分别为延展期子房中部的横切面在光学显微镜下的显微结构; E、F 延展期子房中部的横切面在 538 nm 绿色激发光下的显微结构。

图 5 银扇草果实延展期假隔膜的显微结构及荧光特征

Fig.5 Microstructure and fluorescence characteristics of false dissepiment at extension stage

成熟期的假隔膜呈典型的线型结构(图6-A),假隔膜仅由上、下2层表皮细胞(图6-C)构成。表皮细胞有长细胞和短细胞2种类型,细胞切向壁和径向壁显著增厚,原生质体消失(图6-C)。极少数形状不规则的薄壁细胞残存,分布在腹缝线维管束附近,周围有薄壁细胞的退化痕迹(图6-D)。在538 nm波

长的绿色激发光下,假隔膜发出强烈的自发红色荧光(图6-E、图6-F);残留的少数薄壁细胞的荧光弱于表皮细胞的。在470 nm波长的蓝色激发光下,表皮细胞有微弱的自发绿色荧光,薄壁细胞没有明显的荧光(图6-G、图6-H)。



A 成熟期子房中部的完整横切面的显微结构; B 子房; C、D 成熟期子房中部细胞在正常光下的显微结构; E、F 成熟期子房中部细胞在538 nm绿色激发光下的显微结构; G、H 成熟期子房中部细胞在470 nm蓝色激发光下的显微结构。

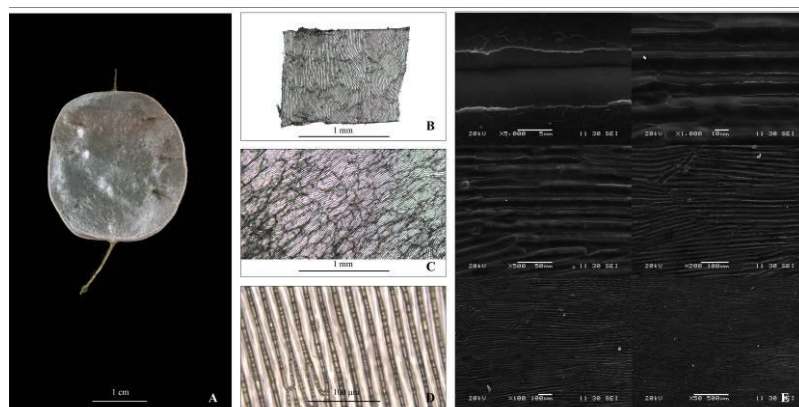
图6 银扇草果实成熟期假隔膜的显微结构及荧光特征

Fig.6 Microstructure and fluorescence characteristics of false dissepiment at ripe stage

2.4 完全成熟的假隔膜的形态以及显微和超微结构特征

果实完全成熟时,果皮及种子脱落,假隔膜、腹缝线、花柱和子房柄宿存(图7-A)。完全成熟的假隔膜近圆扇形,有银色光泽,由2层死亡的表皮细胞组成,相同面的表皮细胞有平行、垂直和倾斜3

种排列方式,细胞壁显著增厚,具单纹孔(图7-D),纹孔间距不同,大小也不相同。在扫描电镜下观察,发现假隔膜细胞外壁上有白色蜡状覆饰物(图7-E),覆饰物平铺在细胞壁上,具不规则纹路,其边缘不平整,呈白色。



A 假隔膜; B、C、D 完全成熟子房中部横切面在光学显微镜下的显微结构; E 完全成熟子房中部细胞的超微结构。

图7 银扇草果实完全成熟假隔膜的形态及显微、超微结构特征

Fig.7 Morphological, microscopic and ultrastructural characteristics of fully mature false dissepiment

3 结论与讨论

假隔膜是果实成熟后果皮脱落而种子仍然保持附着的组织^[13-15]。十字花科植物的雌蕊由两心皮的腹缝线合生形成,为两心皮一室的子房类型。由于假隔膜的形,子房室被分成两部分,形成假二室的子房。果实成熟后,果皮通过木质部所产生的张力与假隔膜分离^[16],果实开裂,假隔膜和腹缝线宿存。已有的观点认为,假隔膜由胎座组织的突起延伸发育而成^[13],如油菜等长角果中假隔膜的产生。本研究中,对银扇草的果实进行连续切片观察,发现银扇草果实假隔膜不单只起源于胎座部位,还起源于没有胎座发生的腹缝线部位,且均具典型的原基结构,即银扇草果实的假隔膜是由不同位点发生的假隔膜原基于子房室内融合形成,并将子房隔成二室,形成与果实形态完全一致的假隔膜。这可能与银扇草果形较大、种子较少以及胎座组织形成的假隔膜覆盖范围有限等有关。

角果可分长角果、短角果、圆形具翅状角果和三角形短角果,是十字花科作物的独有特征,且多具假隔膜。研究^[13]指出,具假隔膜结构的角果其假隔膜有 2 种不同的发育模式,即假隔膜与果实的协同发育和差异发育。如芸薹族芸薹属油菜果实为长角果,果实与种子较大,其假隔膜随果实协同发育,属背腹压扁型,假隔膜较发达,形态近长方形;独行菜族果实为短角果,种子较小,族下菘蓝属、厚壁芥属、沙芥属果实无假隔膜,芥属、群心菜属、独行菜属、高河菜属、菥蓂属果实有假隔膜,位于两心皮腹缝线相交处,垂直于花托,属两侧压扁型,假隔膜不发达,不随果实协同发育,形态近长方形^[17-18]。还有研究^[19]指出,幼嫩的沼生蔊菜、棒果芥、离子芥、虬果芥、涩芥、山柳菊叶糖芥果实具假隔膜,随果实协同发育,属背腹扁平型,假隔膜较发达,果实成熟后其种子较小。

本研究发现银扇草果实的假隔膜极度发达,随果实协同发育,属背腹压扁,近圆扇形。这种现象可能与银扇草的果形较大、种子较少有关。

参考文献:

- [1] MASTEBROEK H D, MARVIN H J P. Breeding prospects of *Lunaria annua* L[J]. *Industrial Crops and Products*, 2000, 11(2/3): 139-143.
- [2] CROMACK H T H. The effect of sowing date on the growth and production of *Lunaria annua* in Southern England[J]. *Industrial Crops and Products*, 1998, 7(2/3): 217-221.
- [3] WALKER R L, WALKER K C, BOOTH E J. Adaptation potential of the novel oilseed crop, Honesty (*Lunaria annua* L.), to the Scottish climate[J]. *Industrial Crops and Products*, 2003, 18(1): 7-15.
- [4] DODOS G S, KARONIS D, ZANNIKOS F, et al. Renewable fuels and lubricants from *Lunaria annua* L.[J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 75: 43-50.
- [5] 赖福兵. 蒜头果油中高纯神经酸的制备研究[D]. 南宁: 广西大学, 2018.
- [6] GUO Y M, MIETKIEWSKA E, FRANCIS T, et al. Increase in nervonic acid content in transformed yeast and transgenic plants by introduction of a *Lunaria annua* L. 3-ketoacyl-CoA synthase(KCS) gene[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(5): 565-575.
- [7] COOMBE B G. The development of fleshy fruits[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1976, 27: 207-228.
- [8] GILLASPY G, BEN-DAVIDH, GRUISSEM W. Fruits: a developmental perspective[J]. *The Plant Cell*, 1993, 5(10): 1439-1451.
- [9] SERRANI J C, FOS M, ATARÉS A, et al. Effect of gibberellin and auxin on parthenocarpic fruit growth induction in the cv micro-tom of tomato[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2007, 26(3): 211-221.
- [10] 李佩芳, 郭至辉, 曾浩, 等. 银扇草(*Lunaria annua* L.) 染色体核型分析[J/OL]. 分子植物育种: 1-6[2023-05-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220415.1054.010.html>.
- [11] BLAŽEVIĆ I, ĐULOVIĆ A, ČIKEŠ ČILIĆ V, et al. Microwave-assisted versus conventional isolation of glucosinolate degradation products from *Lunaria annua* L. and their cytotoxic activity[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 215.
- [12] 郭方斌, 王四海, 王娟, 等. 珍稀植物蒜头果野生植株结实量及果实特征研究[J]. *广西植物*, 2018, 38(1): 57-64.
- [13] 强胜. 植物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [14] FERRÁNDIZ C, LILJEGREN S J, YANOFISKY M F. Negative regulation of the *SHATTERPROOF* genes by *FRUITFULL* during *Arabidopsis* fruit development[J]. *Science*, 2000, 289(5478): 436-438.
- [15] ALVAREZ-VENEGAS R. Putative gene homologues of trithorax in *Arabidopsis*[D]. West Lafayette, USA: Purdue University, 2002.
- [16] YANOFISKY M F, MA H, BOWMAN J L, et al. The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene *agamous* resembles transcription factors[J]. *Nature*, 1990, 346: 35-39.
- [17] 曹董玲. 中国十字花科果实及种子形态学研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2015.
- [18] 曹董玲, 张学杰, 刘玫. 独行菜族 8 属(十字花科)植物果实及种子微形态研究[J]. *植物研究*, 2019, 39(5): 673-682.
- [19] 薛艳. 十字花科部分属种果实假隔膜的比较解剖和种皮微形态的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014.

责任编辑: 毛友纯
英文编辑: 柳 正