

新疆特早熟陆地棉纤维细胞发育过程的超微结构观察

闫洪颖^{1,2}, 胡文冉¹, 范玲^{1*}

(1. 新疆农业科学院核技术生物技术研究所, 乌鲁木齐 830091;

2. 新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052)

摘要:利用透射电镜观察新疆特早熟陆地棉新陆早 36 号纤维发育过程中的超微结构变化。在 10 DPA 纤维细胞初生壁形成期,液泡占据纤维细胞中央,细胞质中有大量的线粒体、内质网、高尔基体等细胞器,初生壁较薄且厚度均匀;在 20 DPA 时,纤维在初生壁内已明显有一层薄薄的次生壁的形成,细胞质中细胞器部分解体;随后次生壁增厚速度逐步加快,在 30 DPA 到 40 DPA 之间,纤维平均增厚速度约为每天 0.139 m,在 40 DPA 到 50 DPA 之间,纤维平均增厚速度约为每天 0.47 m。纤维细胞次生壁向内层逐步层层加厚,形成“日生长轮”。随着纤维细胞的脱水成熟,纤维细胞次生壁增厚使纤维中腔只剩下一条窄缝。观察结果表明,虽然特早熟陆地棉发育进程快,开花早,但纤维细胞的发育进程与所报道的其它棉花品种具有相似性。

关键词:棉花;纤维发育;超微结构;透射电镜;DPA (Day post anthesis)

中图分类号:S562.01 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2009)06-0456-06

Ultra-structural Observation on Fiber Cell Development of Xinjiang Early-maturing cotton

YAN Hong-ying^{1,2}, HU Wen-ran¹, FAN Ling^{1*}

(1. *Institute of Nuclear and Biological Technology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China*; 2. *College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China*)

Abstract: The Ultra-structural developmental process of fiber cell from early maturing cotton (cv. Xinluzao 36) was observed by using transmission electron microscopy. At 10 DPA, when the primary cell wall of cotton fiber was thin and even thickness, and a big vacuole located at the central of fiber cell, there were many organelles, such as mitochondria, ribosomes and Golgi bodies in the cytoplasm. At 20 DPA, a thin layer of the secondary cell wall formed inside the primary cell wall clearly and a part of the organelles disappeared. Subsequently, the secondary cell wall thickened rapidly. The average thickness increased around 0.139 m per day from 30 DPA to 40 DPA and around 0.47 m per day from 40 DPA to 50 DPA. The secondary cell wall gradually thickened and formed daily growth rings. Then the vacuum inside fiber cell became a narrow gap as the fiber maturing. Results showed that the fiber development process of early-maturing cotton was quite similar to other varieties reported, despite flowering and maturing earlier.

Key words: cotton; fiber development; ultra-structure; transmission electron microscope; DPA (Day post anthesis)

棉花是纺织工业的主要原料。棉纤维是由胚珠外珠被 30% 的表皮单个细胞经分化发育而成。

棉纤维发育经历分化突起(起始期)、纤维伸长、次生壁增厚和成熟 4 个阶段^[1]。早期 Flint^[2]和

Basra^[3]等人分别对棉纤维的结构与发育进行了研究。杜雄明等人^[4]的总结中对棉纤维分化和发育的研究很多。张辉等人^[5]的总结表明,在棉纤维发育及其相关基因的调控方面的研究也颇多。邱竟等人^[6]对成熟纤维的外部形态进行了超微结构的研究。Yatsu 等人^[7]对成熟绿棉的超微结构的特点进行了研究,李悦有等人^[8]对成熟彩棉的横切面结构与白棉和棕色棉进行了比较研究。程超华^[9]和丁震乾^[10]分别对棉纤维突变体的超微结构进行了研究。徐楚年等^[11]根据多年的研究提出,棉纤维分化、发育的过程也是其产量和品质形成的过程。因此,了解棉纤维发育过程具有十分重要的意义。但是关于棉纤维整个发育过程中解剖学方面超微结构的详细报道还是很少,尤其是对新疆特早熟陆地棉还没有这方面的系统研究。本文利用新疆特早熟棉新陆早 36 号为实验材料,通过透射电镜,对其棉纤维不同发育过程中的超微结构进行了系统的观察,以期为今后研究新疆特早熟陆地棉不同发育时期的变化与纤维品质形成的基础提供超微结构的依据。

1 材料和方法

1.1 材料

棉花材料新疆特早熟陆地棉新陆早 36 号(生育期 120 d)种植于新疆马纳斯县新疆农科院试验基地。开花当天进行挂牌标记,并以此为基点,取 10、20、30、40、50 DPA 的棉花纤维以及成熟后收获的已脱水成熟的纤维进行透射电镜观察。

1.2 方法

1.2.1 透射电镜制样与观察。取材后应立即投到装有 4%戊二醛(0.1 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液, pH 7.2)的医用小瓶中先固定,后放到 4℃冰箱保存至全部样品取完;将棉纤维进行预包装,即将棉纤维从 4%戊二醛取出在滤纸上拉直,用刀片切取中部长约 0.3 cm,用镊子放到包埋板中摆直,用 3.5%(琼脂粉和 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液配置)琼脂在包埋板中进行预包装,凝固后切除多余的部分,只剩下包埋的纤维,再投到医用小瓶中;用 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液冲洗样品 3 h;1%饿酸(相同的缓冲液)再固定 2 h;接着再用 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液冲洗 1 h;分别经浓度为 30、50、70、80、90、95、100%酒精逐级脱水,每级脱水 20 min,其中 100%需脱水 1 h;再用 1:1(酒精/丙酮)浸 1 h,1:4(酒精/丙酮)浸 1 h 20 min,纯丙酮浸 1 h,1:1(环氧树脂/丙酮)浸 2 h,3:1(环氧

树脂/丙酮)浸 3 h,5:1(环氧树脂/丙酮)浸 4 d,纯环氧树脂(Epon 812)浸 1 d 进行置换;用树脂包埋材料后放到烘箱里分别在 37、45、60℃下各放置 1 d;用德国 LEICA ULTRACUTR 切片机制片;2%醋酸双氧铀和 6%柠檬酸铅染色各 20 min,双蒸水冲洗晾干后即可观察;用日本日立 H-600 透射电镜观察并照相。

1.2.2 测量细胞次生壁厚度。取 10、20、30、40、50 DPA 观察的图片。用 Adobe Photoshop 图像处理软件测量细胞次生壁厚度。每个时期随机取 15 张图,每个图均匀分布取 15 个点测量次生壁垂直厚度求平均值。

按公式进行计算

$$FT(\mu\text{m}) = [(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2]^{1/2} / DP \mu\text{m}$$

式中 FT(μm)表示纤维细胞壁次生壁厚度,(x_1, y_1)为纤维次生壁内围某点坐标,(x_2, y_2)为某点所对应的次生壁外围垂线点的坐标,DP μm 为每微米的像素数。

数据采用 Excel 软件进行统计分析。

2 观察结果

2.1 棉纤维初生壁发育形成期

胚珠原表皮细胞进入起始期分化形成棉纤维原始细胞后,随着棉纤维的不断发育,纤维细胞不断伸长。10 DPA 的棉花纤维属于初生壁形成期,在 10 DPA 棉花纤维横切面(图 1A, B, C, D)中看到,初生壁较薄且厚度均匀(图 1A)。纤维细胞中液泡占据了细胞的极大空间,液泡中几乎不含有电子致密物质,细胞质被挤到贴近细胞壁周围,细胞整体形状椭圆状近乎圆状,很充实(图 1A)。细胞质中大量来自粗面内质网和高尔基体的分泌小泡形成运输小泡,并分布有大量的核糖体(图 1D)。可以清晰地看到线粒体、内质网、高尔基体、小液泡等细胞器的存在(图 1B, C, D)。

2.2 棉纤维次生壁发育形成期

从发育 20 DPA 的棉花纤维横切面(图 1E, F)中可以看出,细胞初生壁没有明显变化,纤维在最外层的初生壁内已明显有一层薄薄的次生壁的形成(图 1E, F)。细胞腔内的细胞器大部分已经消融,仍可看到线粒体(图 1E)。

随着次生壁的不断形成,从发育 30 DPA 的棉花纤维横切面(图 2A, B)中,次生壁比 20 DPA 明显增厚了许多,细胞内仍然存在一些细胞质物质,而线粒体、粗面内质网和高尔基体等细胞器

则已膨胀解体(图 2A,B)。

发育 40 DPA 的棉花纤维横切面(图 2C,D)中,细胞次生壁仍在逐渐增厚(图 2C,D),细胞内仍然存在着一些细胞质物质,但很稀少(图 2D)。

发育 50 DPA 的棉花纤维横切面(图 2E)中,细胞次生壁比 40 DPA 加厚明显,细胞中空内仍存在少量物质,清晰地看到了次生壁一层一层增厚的“日生长轮”(图 2E)。

对发育中(10、20、30、40、50 DPA)纤维细胞壁次生壁的厚度进行测量(图 3)、10 DPA 的棉纤维没有测量到次生壁的发育。随着时期的增加,观察 20 DPA,纤维已经有了次生壁的增厚。在随着时期 30、40、50 DPA 的变化,次生壁随时期逐渐增加。其中的特点是,20 DPA 到 30 DPA 增厚加快,40 DPA 到 50 DPA 这一时期内增厚更快。

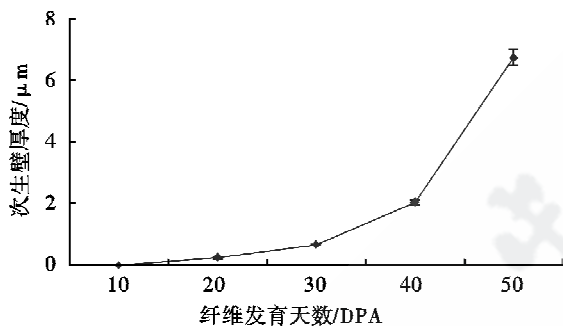


图 3 棉花纤维不同发育时期次生壁厚度变化

Fig. 3 Increasing thickness of secondary cell wall in fiber development periods

2.3 棉纤维脱水成熟期

成熟的棉花纤维横切面(图 2F)中,纤维细胞大体上由外到内分为初生壁、次生壁、中空 3 部分。外部整体形状上已经成扁椭圆状,不断加厚的次生壁把细胞中空挤得很小,成一条窄缝状,且中空内已不见明显的细胞质物质(图 2F)。

3 讨论与结论

3.1 棉纤维初生壁发育形成的机理

棉纤维细胞一般在开花当天开始伸长^[12],伸长持续时间取决于遗传和环境因素。而纤维细胞最快的伸长速率发生在开花后 6~12 d^[12]。我们观察发现新陆早 36 在 10 DPA 的纤维细胞伸长最快时期,细胞中已经形成了大的中央液泡(图 1A)。说明在纤维细胞的伸长中,液泡产生的膨压和初生壁结构共同起作用^[13]。膨压是液泡以盐的形式积累渗透调节的溶质产生的,是纤维快

速伸展的内力^[14]。此时的纤维细胞内还存在大量的细胞器(图 1B,C),这些细胞器大多环绕在细胞壁周围,更有利于细胞壁的合成。Buchanan 等^[15]认为内质网参与蛋白质合成、运输和储存,线粒体参与呼吸作用,是能量代谢中心,高尔基体参与物质代谢、细胞壁合成和细胞分泌等。我们还观察到细胞内的细胞器集中分布很近,并且环绕着许多小泡(图 1D)。Ramsey 和 Berlin 等^[16-17]认为,某些初生壁物质是通过平滑的小泡由高尔基体传递给原生质膜,再结合到初生壁内,高尔基体参与初生壁的合成。高尔基体除了合成和运输细胞壁物质以外,它还形成和补充成为质膜和液泡膜的新膜,从而增加初生壁发生和纤维细胞伸长时细胞的表面积^[4]。

3.2 棉纤维次生壁发育形成的机理

棉纤维次生壁增厚过程为棉叶的光合作用产物-糖经过乙烯类生理生化过程,逐日以纤维素形式沉积在纤维细胞的次生壁上,使纤维次生壁不断加厚。20 d 纤维比 10 d 纤维细胞壁内的物质明显减少,纤维已经有了次生壁增厚的现象(图 2A)。随着细胞次生壁的增厚,纤维伸长也慢慢结束^[18]。Menert 认为纤维素合成快速增加的时期是在开花后 28 DPA^[19]。在我们的观察结果中,30 DPA 到 40 DPA 间较 20 DPA 到 30 DPA 间增厚速度加快了,而再与 40 DPA 到 50 DPA 相比,40 DPA 到 50 DPA 则增厚速度更快(图 3)。结果与徐楚年等人选用的陆地棉北农 1 号的冰冻切片镜检结果相似^[20]。从发育 50 DPA 的棉花中清晰地看到,次生壁在经历了持续加厚后出现宽窄交替的多层结构(图 2E)。这是由于纤维素的沉积有昼夜周期性的变化,纤维细胞次生壁由外向内的逐日加厚且层次分明。

成熟脱水的纤维细胞壁很厚以至把细胞腔挤成窄缝(图 2F)。因此在成熟纤维的横截面上,可以清楚地看到纤维生长的日轮,每一层轮纹便是纤维素在一天内的沉积量,这种纤维的沉积历经 25~40 d 左右,纤维中空显著缩小,壁加厚,因此纤维腔的大小可作为纤维成熟度的标志^[12,21]。

从对该品种纤维发育不同时期的观察来看,棉花纤维经历了初生壁形成,细胞内容物慢慢减少直至消失,细胞壁快速增厚直至脱水成熟的过程。棉纤维伸长是初生壁不断延伸的结果,棉花纤维的次生壁形成过程是一个程序性细胞死亡的过程。

参考文献:

- [1] TIMPA J D, Triplett B A. Analysis of cell-wall polymers during cotton fiber development[J]. *Planta*, 1993, 189:101-108.
- [2] FLINT E A. The structure and development of the cotton fiber[J]. *The cotton fiber*, 1950:414-434.
- [3] BASRA A S, Malik C P. Development of the cotton fiber[J]. *International Review of Cytology*, 1984, 89:65-113.
- [4] 杜雄明,潘家驹,汪若海. 棉纤维细胞分化和发育[J]. *棉花学报*, 2000, 12(4):212-217.
DU Xiong-ming, Pan Jia-ju, Wang Ruo-hai. Differentiation and development of fiber cells on the ovules in cotton[J]. *Cotton Science*, 2000, 12(4):212-217.
- [5] 张辉,汤文开,谭新,等. 棉纤维发育及其相关基因表达调控研究进展[J]. *植物学通报*, 2007, 24(2):127-133.
ZHANG Hui, Tang Wen-kai, Tan Xin, et al. Progresses in the study of gene regulation of cotton fiber development[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2007, 24(2):127-133.
- [6] 邱竟,胡萍,冯新爱. 栽培棉种纤维不同部位的电镜观察[J]. *作物学报*, 1993, 19(5):473-476.
QIU Jing, Hu Ping, Feng Xin-ai. Electron microscopic observation on different parts of fibers in cotton cultigens[J]. *Agronomic Science*, 1993, 19(5):473-476.
- [7] Yatsu L Y, Espelie K E, Kolattukudy P E. Ultrastructural and chemical evidence that the cell wall of green cotton fiber is suberized[J]. *Plant Physiology*, 1983, 73:521-524.
- [8] 李悦有,王学德. 彩色棉纤维的超微结构观察[J]. *浙大学报(农业与生命科学版)*, 2002, 28(4):379-382.
LI Yue-you, Wang Xue-de. Observation of ultrastructure of colored cotton fiber[J]. *Journal of Zhejiang University: (Agricultural & Life Science)*, 2002, 28(4):379-382.
- [9] 程超华,王学德,倪西源. 棉花短纤维突变体纤维伸长的电子显微镜观察[J]. *科学通报*, 2004, 24(49):2552-2555.
CHENG Chao-hua, Wang Xue-de, Ni Xi-yuan. Electron microscopy observation elongation of short-staple cotton fiber[J]. *Chinese Bulletin of Science*, 2004, 24(49):2552-2555.
- [10] 丁震乾. 棉花纤维发育超微结构研究[D]. 南京:南京农业大学, 2004.
DING Zhen-qian. Super structural studies of fiber development in cotton[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2004.
- [11] 徐楚年,柏长青,贾君镇. 棉花纤维发育进程与产量、品质形成[C]//全国第五次作物栽培生理学术讨论会论文集, 1995:76.
XU Chu-nian, Bai Chang-qing, Jia Jun-zhen. Cotton fiber development course and fiber yield, quality formation[C]// Crop Cultivation and Physiology Science Symposium in China V, 1995:76.
- [12] 石鸿熙. 棉花的生长与组织解剖[M]. 上海:上海科学技术出版社出版, 1998.
SHI Hong-xi. Growth and tissue anatomy of cotton [M]. Shanghai: Science Publishing of Shanghai, 1998.
- [13] COSGROVE D J. Loosening of plant cell walls by expansins[J]. *Nature*, 2000, 407:321-326.
- [14] DHINDSA R S, Beasley C A, Ting I P. Osmoregulation in cotton fiber accumulation of potassium and malate during growth[J]. *Plant Physiology*, 1975, 56:394-398.
- [15] BUCHANAN B B, Gruissem W, Jones R L. Biochemistry & molecular biology of plants[M]. American Society of Plant Biologists, 2000:248-258.
- [16] RAMSEY J C, Berlin J D. Ultrastructure of early stages of cotton fiber differentiation [J]. *Botanical Gazette*, 1976, 137 (1):11-19.
- [17] RAMSEY J C, Berlin J D. Ultrastructural aspects of early stages in cotton fiber elongation[J]. *American Journal of Botany*, 1976, 63(6):868-876.
- [18] RUAN Y L, Elewellyn D J, Furban K R. The control of single-celled cotton fiber elongation by developmentally reversible getting of plasmodesmate and coordinated expression of sucrose and K⁺ transporters and expansion[J]. *Plant Cell*, 2001, 13(1):47-60.
- [19] MENERT M C, Delmer D P. Changes in biochemical composition of the cell wall in cotton fiber during development[J]. *Plant Physiology*, 1977, 59:1088-1097.
- [20] 徐楚年,余炳生,张仪,等. 棉花四个栽培种纤维发育的比较研究[J]. *北京农业大学学报*, 1988, 14(2):113-119.
XU Chu-nian, Yu Bing-sheng, Zhang Yi, et al. The comparative studied on fiber development of four cultispecies in cotton[J]. *Agriculturae Universitatis Pekinensis*, 1988, 14(2):113-119.
- [21] 李正理. 棉花形态学[M]. 北京:科学出版社, 1979.
LI Zheng-li. Cotton morphology [M]. Beijing: Science Publishing, 1979. ●