

荔枝果皮发育细胞学研究

李建国¹ 黄辉白¹ 刘向东²

(¹ 华南农业大学园艺学院, 广州 510642; ² 华南农业大学农学院, 广州 510642)

摘 要: 以‘淮枝’荔枝为试材, 对花前子房和花后果皮发育的解剖学特点进行了观察。荔枝果皮可划分为内、中、外 3 层, 外果皮由单层表皮细胞、龟裂片峰处表皮细胞上的角质、裂纹处表皮细胞上的薄壁细胞构成; 中果皮是构建果皮的主体, 由龟裂片峰下的厚壁组织、上中果皮和下中果皮构成; 内果皮由薄壁未木栓化的皮层细胞构成。果皮的细胞分裂主要发生在开花前, 花后不同部位的果皮细胞还有一定的分裂行为, 但分裂的旺盛程度和停止时间有所不同, 下中果皮停止早, 约在花后 19 d, 上中果皮其次, 约在花后 32 d, 内果皮和裂纹处外果皮最晚, 约在花后 47 d。细胞膨大规律总体呈“慢-快-慢”的 S 型。

关键词: 荔枝; 果皮发育; 细胞学

中图分类号: S 667.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 01-0023-06

荔枝果实结构特殊, 具假种皮, 果皮发育对假种皮发育和果实大小具有决定性影响^[1]; 另外荔枝果皮结构与裂果的易感性^[2,3]和果实耐贮性^[4]密切相关。已有的研究对荔枝果皮结构的划分及其细胞分裂时期存在不同看法。在果皮结构方面, Joubert^[5]把果皮分为外果皮、中果皮和内果皮 3 部分; 后来细分为外果皮、上中果皮、下中果皮和内果皮^[6]; 而潘洵操等^[7]认为果皮具有明显的叶性结构, 分外果皮、栅栏组织、海绵组织、维管束和内果皮等。在果皮细胞分裂时期上, Joubert^[5]认为, 受精后果皮的细胞分裂和分化才大量进行, 花后 34 d 才能识别内、中、外果皮, 受精后 70 d 停止细胞分裂; 王惠聪等^[3]观察到, 内、中、外果皮的细胞分裂分别停止于花后 4~8 d, 16~22 d 和 48~56 d。此外, 有关开花前子房壁细胞分裂和膨大以及各层果皮的发育特点, 还缺少深入细致的研究资料。

1 材料与方法

1998 年在台山顺隆荔枝园选生长正常的 10 年生‘淮枝’荔枝树 1 株, 从开花前 18 d 起, 在树冠外围中部选发育状态一致的 5 个花穗挂牌, 花前取雌花蕾, 花后 0~7 d 取子房, 其后取果皮。花前 18 d 至花后 35 d 每隔 3 d 取样 1 次, 花后 35~80 d 每隔 7~10 d 取样 1 次。上午 08:00~08:30 取样, 先用卡诺固定液固定, 12 h 后用 95% 乙醇溶液冲洗数遍, 转入 70% 乙醇中放入 4℃ 冰箱备用。花前的雌蕾在双目解剖镜下剥除苞片并挑出其中的小子房 (在 70% 乙醇中操作), 0~7 d 的子房先切除柱头, 果皮则切成 0.2 mm 的方块, 然后进行乙醇梯度脱水。采用 7022LH 塑料包埋制片技术进行切片观察^[8]。在 Olympus BH2 生物显微镜下进行观察、记录和拍照。用测微尺测量 15~20 个细胞, 以切向和径向直径的乘积作为细胞大小。在 1 000 倍显微镜下统计具分生组织性质细胞 (指细胞核明显、细胞质浓厚的细胞) 数量 (A) 和细胞总量 (T), 以 A/T 的百分比作为衡量细胞分裂旺盛程度依据。

2 观察结果

2.1 内果皮发育的特点

内果皮系由子房壁的最内层细胞发育而成, 与珠柄相连 (图版, 1), 由小而未木栓化的薄壁表皮细胞组成。从图 1 可以看出, 花前 6 d 以前子房壁最内层的细胞分裂最为旺盛, 具分生组织性质细胞

收稿日期: 2002-03-12; 修回日期: 2002-08-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770529); 广东省自然科学基金项目 (960440); 霍英东教育基金资助项目 (71021)

占总观察细胞数的比例一般超过 70%，在开花前 2~3 d 开始迅速下降，其比例从花前 5 d 的 94.6% 下降到花前 3 d 的 18%，花后 0~47 d 的内果皮具有分生组织性质的细胞仍占一定比例但较低，约在 2%~8% 之间。从细胞层数变化来看，花前子房壁最内层和花后 10 d 以内的内果皮均为 1 层（图版，3），说明在此之前的细胞分裂方式均以垂周分裂（图版，2）为主，主要作用是增加内果皮表面积，以适应胚珠和受精后胚胎发育生长的需要；从花后 13 d 起，内果皮层数已变成明显的 2~3 层，此后细胞层数逐渐增多，至花后 47 d 增至 11~13 层（图版，4），说明从花后 10 d 起，内果皮细胞分裂方式以平周分裂（图版，5）为主，主要增加内果皮层数和厚度。

内果皮细胞膨大（图 2，A）可分为 3 个阶段，基本呈‘快—慢—快’的单 S 型图式。（1）花前膨大期，花前 18~0 d 平均膨大速率为 $3.73 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$ ；（2）花后缓慢膨大期，花后 0~41 d 平均膨大速率只有 $0.13 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$ ；（3）花后快速膨大期，花后 41~80 d 平均膨大速率为 $6.33 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$ 。

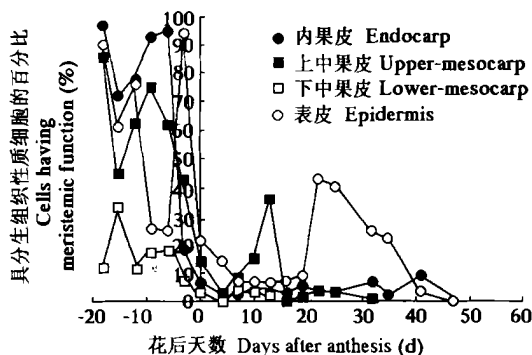
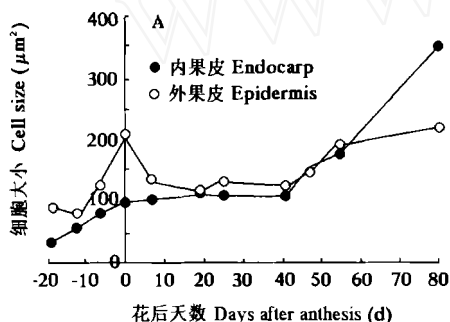


图 1 ‘淮枝’荔枝果皮发育进程中细胞分裂旺盛程度的变化

Fig. 1 Dynamics of cell division in ‘Huaizhi’ litchi pericarp during development

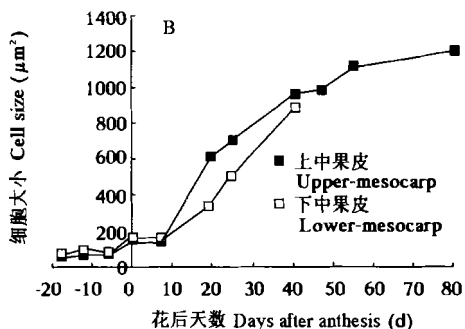


图 2 ‘淮枝’荔枝果皮发育过程中细胞膨大动态

Fig. 2 Cell size changes in the pericarp of ‘Huaizhi’ litchi during development

2.2 中果皮发育的特点

中果皮由厚壁细胞层、上中果皮和下中果皮 3 部分组成。厚壁细胞层系指龟裂片峰下方的 1~2 层石细胞，上中果皮指外果皮以下至包括原形成层（或维管束）在内的部分，下中果皮指原形成层（或维管束）以下和内果皮以上的部分，上中果皮与下中果皮分界线在细胞裂生腔未完全形成前虽不十分明显，但可以大体区分（图版，6、7）。为叙述方便据此把中果皮分成 3 部分来分析其发育特点。

子房壁的表皮下方有一层细胞，在花前 18 d 为薄壁细胞（图版，6），自花前 18 d 起，未观察到具分生组织性质细胞的存在，表明其分裂能力很低，但随着发育进程，其细胞大小和细胞壁厚度会逐渐增大。约花后 10 d 可见其细胞壁明显加厚，成为厚壁细胞，胞壁厚度约 2~3 μm （图版，8），花后 55 d 的胞壁厚度达 8~10 μm 。观察还发现，裂片峰表皮下的厚壁细胞多数呈单层切向排列，但也有多至 5 层的厚壁细胞径向排列在一起现象（图版，9）。另外，这些切向排列的厚壁细胞并不一定互相紧密连接，而往往被 1 层（图版，9）或 2~3 层薄壁细胞隔断（图版，10）。

上中果皮花前具分生组织性质的细胞占比例最高，一般为 43%~86%，花后比例较低，但花后 4~13 d 之内其比例有较快的上升（图 1），说明上中果皮的细胞分裂存在花前和花后两个高峰，但主要还在花前。细胞分裂主要集中在裂纹两侧及其下方部分（图版，11）；位于上中果皮部分的原形成层细胞（图版，12）具有较旺盛的细胞分裂能力，它们进一步分化为微管组织（图版，13），其中存在着大量导管（图版，14）。厚壁细胞下方的上中果皮细胞的分生能力最低，花后 32 d 以后观察不到

具明显分生组织的细胞,表明此时细胞分裂趋于停止。上中果皮细胞的形状、大小不一,多数呈径向排列,细胞层次也不清楚,不易辨清细胞层数(图版,3)。从显微结构可观察到上中果皮中存在一类“巨型细胞”,一般比其周围细胞大2~3倍,这类细胞多分布在裂纹的两侧(图版,15)。

上中果皮细胞的膨大可分为3个阶段(图2,B):(1)第1次缓慢增长期,主要在花后7d之前,平均膨大速率为 $3.21 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$; (2)快速膨大期,从花后7d至花后41d,平均膨大速率为 $24.72 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$; (3)第2次缓慢膨大期,主要在花后55d以后,平均膨大速率为 $5.89 \mu\text{m}^2 \cdot \text{d}^{-1}$ 。

下中果皮细胞在花前虽有细胞分裂,但比例较低,一般为7%~18%,花后分裂细胞比例进一步下降,维持在2%~4%之间,花后13d以后停止分裂(图1)。下中果皮主要是由薄壁细胞组成,花后19d可见细胞壁解体形成空隙(图版,16),花后22d细胞间空隙进一步加大,至花后32d细胞排列的层次模糊不清,基本形成类似叶片海绵状组织结构(图版,17)。在海绵状组织结构未完全形成之前,细胞排列多以切向为主,细胞切向直径大于径向直径,细胞层数可辨,花前18d只有2~3层(图版,6),花后19d增多至13~14层(图版,18),细胞层数增加6~7倍。说明下中果皮细胞分裂主要以平周分裂为主。下中果皮细胞膨大可分为2个阶段(图2,B):(1)缓慢增长期,主要在花后7d之前,如花后7d细胞大小比花前18d细胞要大111%; (2)快速膨大期,从花后7d至大部分细胞壁解体,如花后41d的细胞大小是花后7d细胞的4.44倍。

2.3 外果皮发育的特点

子房壁的最外层表皮细胞在花前18d呈平展状(图版,19),至花前15d出现微瘤状突起(龟裂片的雏形,图版,20),其生成方向是从基部向顶端发育,近珠柄端先于其它部位,至花前9d,近珠柄端处的龟裂片表皮细胞有20~25个,而远珠柄端有的部位才刚刚出现微突起,即便已形成可见龟裂片的,其细胞数量也少于近珠柄端(图版,21),至花前3d,可见龟裂片的明显凸起(图版,7)。龟裂片与龟裂片连接处拟称为“裂纹”,龟裂片的顶部拟称为“龟裂片峰”(图版,7)。在整个外果皮发育期间,表皮细胞基本呈单层排列,在裂纹处偶见双层(图版,22),表明外果皮表皮细胞主要以垂周分裂扩大其表面积。裂纹处的表皮细胞通过垂周分裂使裂纹逐渐加深变长,裂片峰处表皮细胞通过垂周分裂使龟裂片增大变宽。裂片峰处表皮细胞在花后32d会分泌一层角质保护层(图版,23),而裂纹处的表皮细胞则会分化出一些薄壁细胞填充两个龟裂片之间的缝隙(图版,22)。

从表皮细胞分裂的旺盛程度看(图1),表皮细胞具有花前和花后两个分裂峰期,花后峰出现在花后22~35d。从外果皮外表皮细胞分裂的停止时间看,裂片峰处表皮细胞在前,大约在花后25d,裂纹处表皮细胞在后,大约在花后47d。表皮细胞的大小在整个发育期间变化不大(图2,A),花后80d的细胞大小与花前18d相比,只膨大了1.47倍。

3 讨论

本试验结果表明,荔枝果皮源于子房壁,由外、中、内果皮三部分组成(图版,24),在总体划分上与前人研究结果一致,不同之处在于外果皮和中果皮组成。前人的石蜡切片的结果表明外果皮由厚壁组织、外表皮及角质构成^[3,5,6];扫描电镜观察的结果表明外果皮只有一层表皮细胞,中果皮分化出栅栏组织、海绵组织和维管束^[7];而我们认为,外果皮由单层表皮细胞和龟裂片峰上的角质构成,中果皮由龟裂片峰下的厚壁组织、上中果皮和下中果皮构成。

把龟裂片峰下的厚壁细胞划入中果皮部分,有以下理由和证据:花前18d子房壁结构由内外表皮细胞和中间未分化的薄壁细胞组成,明显可区分出子房内壁、子房中壁和子房外壁,相应发育成内、中和外果皮,而形成厚壁组织的细胞层属于子房中壁(图版,6);外表皮细胞主要靠垂周分裂来实现表面积的扩大,在形成了龟裂片(瘤状突起物)之后,才有可能把外表皮细胞划分成裂片峰处和裂纹处外表皮两部分,它们内外层细胞的性质也不同,裂片峰处外表皮细胞外层被一层角质覆盖,内层细胞即为厚壁细胞,而裂纹处外表皮外层细胞是被薄壁细胞所填充,其层数由裂纹缝隙大小决定,

内层为薄壁细胞。前人研究基本上都是基于对成熟果实的果皮观察结果, 所以观察到的常是裂片峰处的果皮结构, 事实上外表皮下的厚壁组织与中果皮的薄壁细胞有较明显的区别。裂片峰表皮下的厚壁细胞有多至 5 层的厚壁细胞径向排列在一起伸入至上中果皮部分 (图版, 9)。厚壁细胞并不一定连续紧密排列, 可能被几层薄壁细胞所隔断 (图版, 10)。

荔枝果皮的细胞分裂主要发生在花前子房壁分化阶段, 花后果皮的不同部分, 甚至同一部分不同位置的细胞有一定的分裂, 但分裂的旺盛程度和停止的时间有所不同, 这一结果与 Joubert^[5]关于果皮细胞分裂及分化在受精后才大量进行, 大约在受精后 70 d 分裂才停止的推断不同。王惠聪等^[3]认为细胞分裂停止时间以内果皮最早, 外果皮最晚; 而本研究的结果是中果皮最早, 内果皮和外果皮最晚, 内果皮和外果皮同为表皮细胞, 其细胞分裂持续时间比中果皮长 (大约花后 47 d) 是可以理解的。

荔枝果实发育受制于“球皮对球胆效应”, 即大果皮导致形成大果^[1], 细胞数量而非细胞大小是形成大果皮的细胞学基础^[8]。根据本试验的结果, 旺盛的细胞分裂主要发生在开花前和果皮发育为主的“阶段 I”, 因此, 在“阶段 I”之前增加细胞数目是调控果皮的关键时期, 可能的措施要围绕增加树体的贮藏营养, 减少营养消耗, 以及减少前期库器官 (如幼果之间) 间的竞争入手。

中果皮是构成果皮的主体, 花后 41 d 的下中果皮细胞壁大部分解体, 形成类似叶片海绵状网络结构, 其网络是否清晰、规则以及空隙的大小与品种裂果易感性有关^[3], 一般内外果皮细胞越小, 果皮的抗裂性越强^[9]。荔枝果皮中以内果皮抗张强度最大^[2], 且在裂果发生过程中表现为最后开裂^[10], 另外, 中果皮细胞分裂停止时期明显早于内外果皮。据此推测, 中果皮, 特别是下中果皮结构对荔枝裂果影响更大, 延长中果皮细胞分裂时期, 增加细胞数量和降低细胞大小可能有助于减轻荔枝裂果。

参考文献:

- 1 黄辉白. 具假种皮 (荔枝、龙眼) 果实生理研究进展. 园艺学年评, 1995, 1: 107~120
- 2 李建国, 黄辉白. 荔枝果实理化特性及果皮形态学与裂果易感性的关系. 华南农业大学学报, 1995, 16 (1): 84~89
- 3 王惠聪, 韦邦稳, 高飞飞, 等. 荔枝果皮组织结构及细胞分裂与裂果关系探讨. 华南农业大学学报, 2000, 21 (2): 10~13
- 4 彭永宏, 林国辉. 荔枝果皮超微结构的比较观察. 果树科学, 1999, 16 (1): 18~23
- 5 Joubert A J. Litchi in CRC Handbook of fruit set and development. (ed. SP Monselise), Florida, CRC Press Inc, Boca Ratin, 1986. 233~246
- 6 Underhill S J R. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during fruit development. J. Hort. Sci., 1992, 67 (4): 437~444
- 7 潘洵操, 谢宝贵. 荔枝果皮的扫描电镜观察. 园艺学报, 1996, 23 (3): 227~230
- 8 李建国, 黄旭明, 黄辉白, 等. 大果型和小果型荔枝品种果实发育细胞学和生理学比较. 果树学报, 2002, 19 (3): 158~162
- 9 Hankinson B, Rao V N M, Smit C J B. Viscoelastic and histological properties of grape skins. J. Food Sci., 1977, 42 (3): 632~635
- 10 王惠聪, 高飞飞, 黄辉白, 等. 荔枝裂果过程的果皮形态变化观察. 广东农业科学, 1999, 2: 23~24

Cytological Studies of Litchi Pericarp during Development

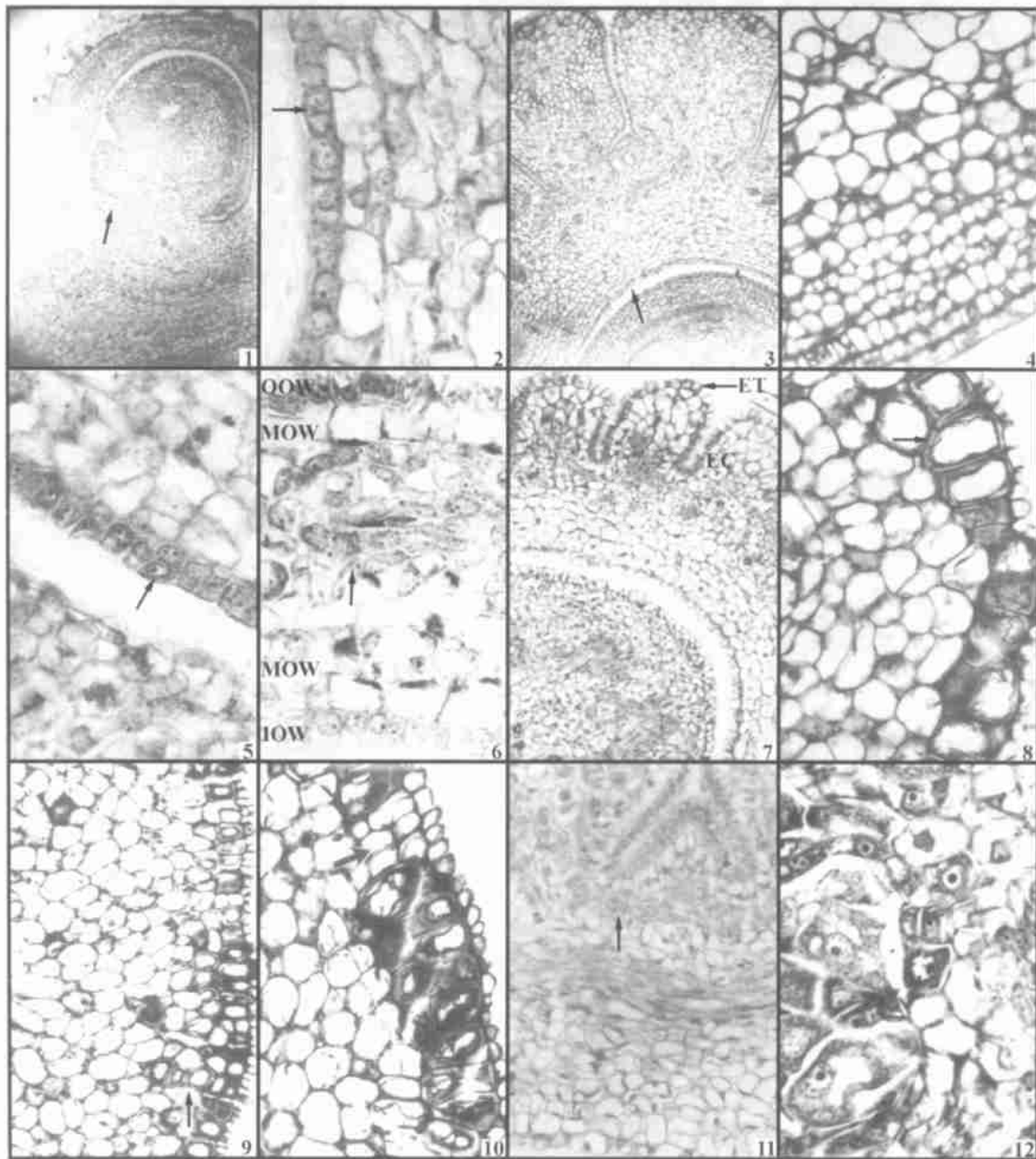
Li Jianguo¹, Huang Huibai¹, and Liu Xiangdong²

(¹ College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ² College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Microscopic research has been made with cv. Huaizhi of litchi (*Litchi chineasis* Sonn.), using 7022LH (Leica 7022 histeresin embedding kit) plastic embedding and half-thin slice-up techniques. Ovary and pericarp collected before and after anthesis served as materials. The exocarp was the outermost layer consisting of uniseriate epidermis, cuticle on the epidermis and in the tubercles, and parenchyma cells in the epidermis of the crackles. The mesocarp, being the main body of a pericarp, contained sclerenchyma, upper-mesocarp and lower-mesocarp. The endocarp was composed of unuberized small and thin-walled epidermal cells. Cell division in the pericarp proceeded mainly during the period prior to anthesis, and continued after anthesis while the dates of cessation were different in endocarp, mesocarp and exocarp; the cell division in the lower mesocarp ceased as early as about 19 days, that in the upper mesocarp ceased about 32 days, and that in the endocarp and the epicarp in the crackles ceased about 47 days after anthesis. Cell expansion in the pericarp exhibited roughly a single sigmoid pat-

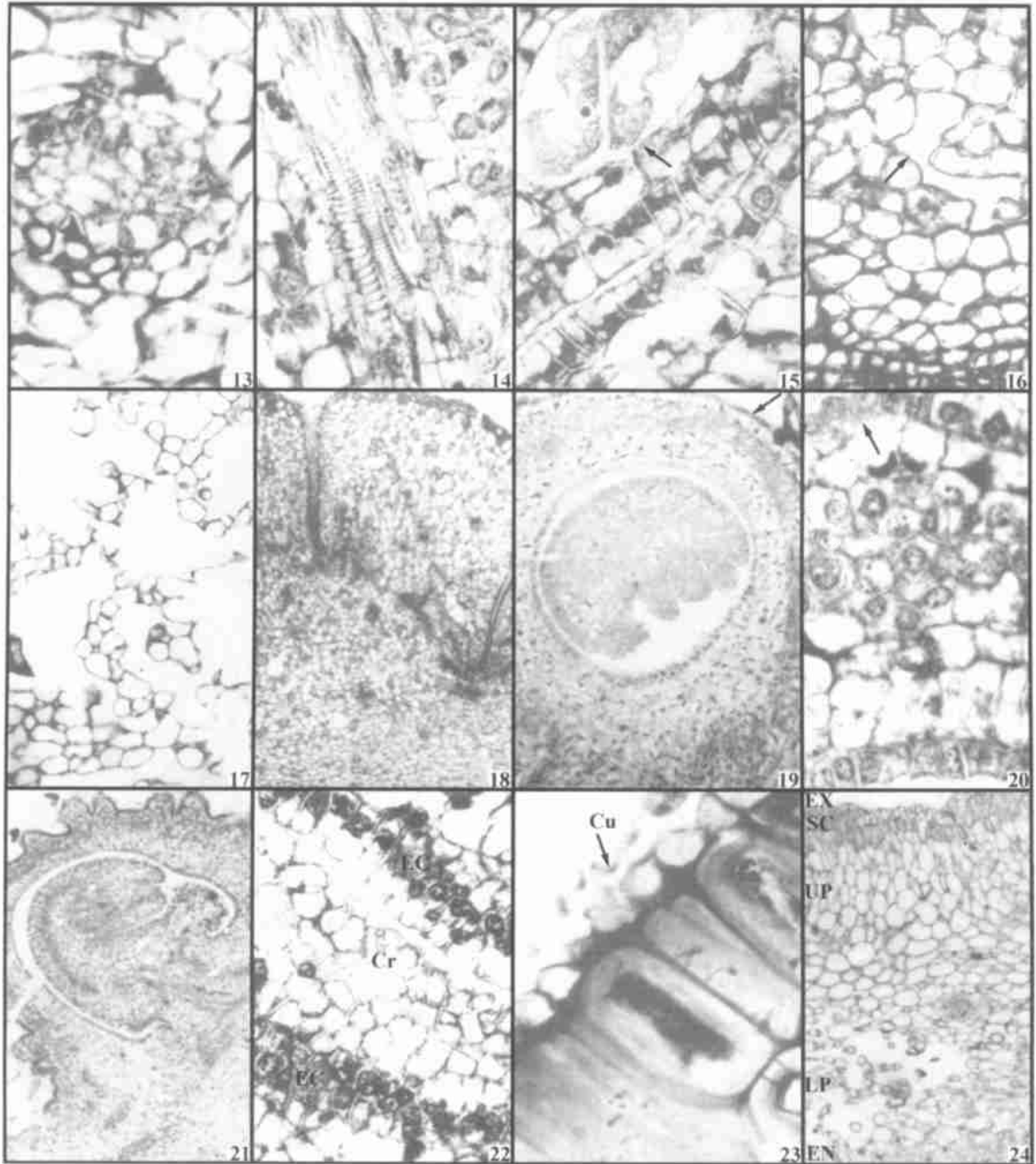
tern, with some differences for different parts of tissues and different types of cells.

Key words: Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.); Pericarp development; Cytology



图版说明 1. 花前 15 d 子房, 箭示子房壁内层与珠柄相连, 66 ×; 2. 花前 12 d 子房壁内层为一层垂周分裂的细胞 (箭所示), 660 ×; 3. 花后 10 d 内果皮为一层 (箭所示), 66 ×; 4. 花后 47 d 内果皮有 11~13 层, 66 ×; 5. 花后 13 d 内果皮中进行平周分裂的细胞 (箭所示), 660 ×; 6. 花前 18 d 子房壁, IOW - 子房内壁, MOW - 子房中壁, OOW - 子房外壁; 箭示原形成层, 660 ×; 7. 花前 3 d 的子房壁, ET - 龟裂片峰处外表皮, EC - 裂纹处外表皮, 132 ×; 8. 花后 10 d 的厚壁细胞 (箭所示), 264 ×; 9. 花后 25 d 的 5 层厚壁细胞 (箭所示), 132 ×; 10. 花后 28 d 的厚壁细胞被薄壁细胞隔开 (箭所示), 132 ×; 11. 花后 13 d 裂纹附近上中果皮细胞 (箭所示), 660 ×; 12. 花后 13 d 的原形成层细胞, 660 ×。

Plate Explanation 1. Ovary on 15 DBA, Arrow indicate the connection between the inner layer of ovary and obturator, 66 ×; 2. One layer inner ovary cells and anticlinal division cell (arrow indicates) on 12 DBA, 660 ×; 3. One layer endocarp cells on 10 DAA (arrow indicates), 66 ×; 4. Eleven to thirteen layers endocarp cells on 47 DAA, 66 ×; 5. Periclinally dividing endocarp cell on 13 DAA (arrows indicate), 660 ×; 6. Ovary wall on 18 DBA, 660 ×, IOW-inner ovary wall, MOW-middle ovary wall, OOW-outer ovary wall, arrow indicates protocambium; 7. Ovary wall on 3 DBA, ET-epidermis in the tubercles, EC-epidermis in the cracks, 132 ×; 8. Sclerenchyma cell on 10 DAA (arrow indicates), 264 ×; 9. Five layers Sclerenchyma cells on 25 DAA (arrow indicates), 132 ×; 10. Sclerenchyma cells separated by parenchyma cells on 28 DAA (arrow indicates), 132 ×; 11. Cells of upper mesocarp nearby crackle on 13 DAA (arrow indicates), 660 ×; 12. Protocambium cells on 13 DAA, 660 ×.



图版说明 13. 花后 7 d 上中果皮中的微管束, 660 \times ; 14. 花后 7 d 上中果皮中的导管, 660 \times ; 15. 花后 7 d 裂纹附近的“巨型细胞”(箭所示), 660 \times ; 16. 花后 19 d 下中果皮中的空隙开始形成(箭所示), 264 \times ; 17. 花后 32 d 下中果皮中的空隙基本形成, 132 \times ; 18. 花后 19 d 果皮, 50 \times ; 19. 花前 18 d 子房壁(箭示平展的外壁), 132 \times ; 20. 花前 15 d 子房壁(箭示微突的外壁), 660 \times ; 21. 花前 9 d 子房, 132 \times ; 22. 花后 22 d 裂纹处外表皮细胞(EC)和裂纹(Cr), 660 \times ; 23. 花后 32 d 厚壁组织上方的外果皮, 箭头示龟裂片峰处外表皮(ET)和角质层(Cu), 660 \times ; 24. 花后 80 d 果皮, EN(内果皮), LP(下中果皮), UP(上中果皮), SC(厚壁细胞层), EX(外果皮), 26.4 \times 。

Plate Explanation 13. Vascular bundle of upper mesocarp on 7 DAA (arrow indicates), 660 \times ; 14. Vessel of upper mesocarp on 7 DAA, 660 \times ; 15. "Huge cell" nearby crackle on 7 DAA (arrow indicates), 660 \times ; 16. Interspace of lower mesocarp preliminarily formed on 7 DAA (arrow indicates), 264 \times ; 17. Interspace of lower mesocarp formed on 32 DAA, 132 \times ; 18. Pericarp on 19 DAA, 50 \times ; 19. Ovary wall on 18 DBA (arrow indicates the flatted outside wall), 132 \times ; 20. Ovary wall on 15 DBA (arrow indicates the slightly protuberant outside wall), 660 \times ; 21. Ovary on 9 DBA, 132 \times ; 22. Epidermis cell (EC) and crackle (Cr) on 22 DAA, 660 \times ; 23. Exocarp above Sclerenchyma on 32 DAA, arrow indicate epidermis (ET) and cuticle (Cu), 660 \times ; 24. Pericarp on 80 DAA, EN-Endocarp, LP-Lower mesocarp, UP-Upper mesocarp, SC-Sclerenchyma, EX-Exocarp, 26.4 \times .