

植物细胞的外连丝与类外连丝的结构与功能*

张迎迎 王冬梅**

(河北农业大学生命科学学院 保定 071001)

摘要 外连丝作为特化的通道结构存在于植物的表皮细胞外侧壁中,而在植物局部组织衰败过程中衰亡细胞与存活细胞分界壁上有类似外连丝的半胞间连丝存在,可称之为类外连丝。本文对外连丝和类外连丝的结构、功能方面的研究结果与近年进展予以综述,并讨论了植物细胞胞壁上类外连丝的出现于共质运输和细胞内含物再分配中的可能意义。

在 Tangle^[1] 发现胞间连丝以来的 100 多年里,人们对细胞间的原生质联络从结构、功能上作了大量的研究并取得了显著进展与成就^[2,3]。然而对于在表皮细胞外侧壁上是否存在类似的结构研究很少,只有距胞间连丝发现 60 年之后才于 1939 年觉察到了表皮细胞上外连丝的存在^[4]。至于在一个完整植物中因形态发生而出现的各种质外体空间或因细胞/组织的盛衰变化而呈现的局部空隙与它们相邻的细胞分界壁上是否亦存在着类似外连丝的结构或者是原有胞间连丝的存留物,则更是少有人顾及,但显然,这是在植物个体发育过程中频繁发生着的。我们在开展有关胞间连丝的修饰与衍变现象时结合查阅文献资料感到,上述两方面问题对深入探讨植物与外界环境间的物质交流以及植物体内细胞内含物的再分配、再利用可能有着重要作用;尽管迄今所收集文献数量有限,但从中可以见到若干有价值的线索,值得作一个简要的回顾与归纳,希冀能引起学术界的关注与兴趣。

外连丝的形态结构特征

在发现胞间连丝的六十年后, Schumacher 和 Halbsguth 经特殊的显微技术处理于 1939 年发现在植物表皮细胞外壁上有大量孔道的存在;在多种植物的外表皮细胞上证实了他们的观察,认为这些表皮细胞外壁的通道结构具有真实的原生质性质^[5-9],为表皮细胞原生质与胞外空间的直接联系。根据 Ruhland 的建议,外侧壁上的这些通道被命名为外连丝(ectodesmata),以与胞间连丝相区别^[6]。与胞间连丝相比,外连丝仅在一侧与表皮细胞的原生质体相连,然而它们并不外裸,通常为角质层所覆盖,如下图所示。

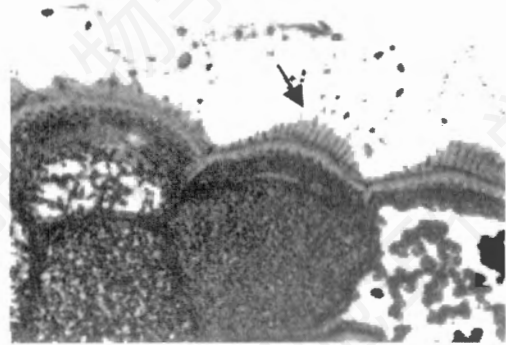


图 光镜下的外连丝^[23](箭头所示)

Lambertz 和 Schnept 利用 Gilson 溶液,借助氯化汞沉淀,在光学显微镜下观察到了叶、茎、花瓣、叶柄和蔓中的表皮细胞外壁上的外连丝^[5,7]。随后,利用电子显微镜技术、HgI 法和偏振显微镜法分别证明了外连丝的存在^[7,9]。在显示外连丝存在、形态、分布上,汞沉淀法广泛与普遍地为各国学者所应用,是检查外连丝的主要依据。

起初研究者认为外连丝的形态是多种多样的,观察到它们呈圆锥形的、楔形的、或带状的各种状态。大多数情况下,植物叶子上所见的外连丝多呈完整的线状,甚至还有呈伞型的蘑菇状,伞部接触着原生质,而梗部附着在角质膜上^[10,11]。但是,随后的研究证明,外连丝的形态并不是那么多样化的,只是由于研究方法上汞沉淀的多样性引起的景象^[12,13]。

* 国家自然科学基金资助项目(批准号:30070365)。

** 通讯联系人。E-mail: dongmeiwang63@hotmail.com

一般而言,外连丝具有分布不均匀,密度差异大的特点。在叶表面一些区域内外连丝的分布很有规律性,且数量很多,而其他区域只有少量或几乎没有。外连丝特别丰富的区域是大叶脉的两侧、保卫细胞处、圆锥形腺毛(conical hair)以及围绕头状腺毛的表皮细胞。外连丝呈线状或链状排列,很整齐而且不受细胞限制,而另一些情况是,外连丝都挤在垂周壁上,或外连丝可能环绕着圆锥形毛细胞,并且在这些腺毛周围的表皮上呈现环状排列,好像是腺毛基部细胞周围的连续螺旋形链;另外,气孔保卫细胞上的外连丝部分集中在凸壁上,部分在孔边缘的凹壁上,有时则只集中在气孔的极端;相对于圆锥形腺毛,头状腺毛没有外连丝,但在他们附近环绕他们基部细胞的表皮细胞上经常发现大量的外连丝存在^[14]。这些观察似乎支持了下面要讨论的外连丝与叶吸收和叶分泌相关的观点。

大多数外连丝并不是贯穿整个细胞壁,而是在细胞壁中间就中断。这种中断不是实验中人为因素造成的,而是外连丝的自身中断,这是因为在靠近细胞内腔处的细胞壁上缺乏某种还原物质,该物质是由表皮细胞原生质体分泌出来的。Franke^[15]利用抗坏血酸处理叶片,发现原本中断着的外连丝在抗坏血酸的诱导下多数可延伸并贯穿整个细胞壁到达细胞内腔。其他的诱导因子还有半胱氨酸、谷氨酸和苯丙氨酸等。叶片表皮层分泌抗坏血酸的事实随后被 Tukey^[16]证明,说明植物叶片自身分泌抗坏血酸来诱导外连丝的延伸。因此,有人提出了这样的观点:外连丝并不是自身存在结构多样性,而是依赖于诱导因子导致其结构发生变化。

最初,研究者们认为处在叶片上的外连丝的数量是处于动态变化中,在夜间数量多,而在白天数量相对的就变少^[5],这一点似表明外连丝可以像阿米巴伪足那样从原生质体上向外伸出或缩回。但 Schumacher 认为,外连丝始终如一地存在于细胞壁上^[17]。1959年, Sievers 证明外连丝随昼夜的交替有一个明显的变化规律,在高温和光下外连丝相对变少,而黑暗和低温会促进外连丝的增加,因此推测外连丝有一个生理变化过程,它可能影响到氯化汞检测法的效果^[9]。萎蔫的叶子比正常的叶子的吸收能力弱,萎蔫的叶子中贯穿型外连丝的数量也相对的少,同时,中断型的外连丝数量增加^[14]。Panic^[18]随后也证明了外连丝的数目随着物种和品种以及环境因子的变化而发生动态的变化。

由光学显微镜图像显示外连丝通道孔径在

0.8–1.0 μm 或更大。与一般胞壁上常见的纹孔场的大小相近似,但是表皮细胞外侧胞壁上汞沉淀物所显示的通道是否亦具有与纹孔类似的结构,尚待进一步的细致分析。Franke^[13]在存放数月的切片中观察到外连丝断面上原先的点状汞沉淀因局部退色而显露出大量纤细点状物;与 Schnepf 在超微结构观察中所揭示的外连丝通道的纤丝网络相结合来考虑,显示出光镜下所见外连丝实际上是由大量纤细丝状空隙集束形成的可能性^[7]。在这一点上似乎可与纹孔场中成束胞间连丝相比拟,诚然,不可能相等同之。

随着外连丝研究的逐步深入,早期发现时所形成的认识,尤其是当初比照胞间连丝而对外连丝原生质性质的判断没有获得足够的验证,曾对外连丝进行长期与系统研究的德国学者 Franke 在深入分析了显示外连丝的汞沉淀技术及外连丝形态与表皮细胞原生质体关系时亦改变了早期的看法,提出了不能把外连丝看作是原生质向外延伸物,甚至建议以外向的细胞通道(endocychodes)取代之^[13,19]。什么是真实的外连丝?成为亟待澄清的疑点^[20]。归纳上世纪60–70年代有关实验资料可见,产生疑义的原因主要有两点:一是,能检测到胞间连丝的技术难以运用在外连丝的观察上,反之亦然;而更重要的是在电镜下没有能观察到类似于胞间连丝的原生质组分的参与,这一点成了判认外连丝是否具有原生质性质的关键所在,亦是导致随后相当长时间内(上世纪70–90年代)外连丝研究未得以充分开展的重要因素。

随着外连丝在形态分布上被确定,必然带来了一系列有关其功能的研究。与外连丝的性质确证上的疑难不同,有关功能的探讨却相对顺利得多。与胞间连丝相比照,外连丝可能是物质运输的通道,它参与叶片对外源物质的吸收,这是首先被注意到的^[14]。研究者们通过实验进行的论证表明:植物因某些元素的缺乏而呈现的病症在通过喷洒足够的可溶性微量元素后而得到解决^[21];生长调节剂、除草剂、杀真菌剂,杀虫剂喷洒在植物叶片上后,通过外连丝运输到细胞内^[14,18];叶脉上面或下面的组织可以透过水和可溶性的染料,而正是在这些区域有大量的外连丝;在保卫细胞处,如果含有大量的外连丝,则此处的叶片吸收能力变强^[13]。已经证明了在气孔和保卫细胞环绕的孔处以及表皮细胞的垂周壁上,都有可溶性物质被吸收,并且在相同的区域有大量的外连丝存在。当邻近细胞胞间连丝减少或缺乏

时,叶结构组成,如保卫细胞、圆锥形毛、垂周壁和邻近叶脉的表皮上的外连丝的数量相应增加^[13]。

不仅仅是叶吸收与外连丝有关,叶分泌也与外连丝相关,由原生质体分泌出来的物质渗出到表皮层。水蒸气从角质层处挥发是沿着表皮细胞的垂周壁表面进行的,而在垂周壁上有大量的外连丝存在。利用洋葱鳞茎观察发现叶分泌物质的部位与外连丝的部位相一致^[11]。

自上世纪 70 年代中期以来外连丝研究经历了一个较长时期的沉寂,在期间多次有关胞间连丝的国际学术会议上亦未见涉及与外连丝有关研究。在最近文献中外连丝的被涉及是与表皮细胞分泌功能,尤其是大分子物质的分泌密切相关的。据 Van Amstel 报道^[22],在洋葱鳞茎表皮细胞的外侧壁上观察到胼胝质沉淀,这些胼胝质的产生与变动均与外连丝的分布有关,胼胝质有可能作为水流通的调节剂或分子筛来参与外连丝功能的调节以适应外界环境。胼胝质亦被认为参与了胞间连丝通透性的调节,在这一点上,外连丝与之有类似之处。

Bregman^[23]对南美仙人掌科多种植物的观察发现,在种子萌发时,表皮细胞产生某种蛋白类物质,并通过细胞外壁上的外连丝输出与累积在角质层下,这种蛋白可促进种子更好的吸收外界环境中的水分以利于种子在干旱条件下萌发。在该项研究的实验中外连丝的显示并不依靠汞沉淀法,仅用甲苯胺蓝染色即可在树脂切片上清晰地观察到表皮细胞外侧壁上纤细孔道,甲苯胺蓝通常可使原生质组分着色,它对外连丝的显示似有助于深化对外连丝性质的认识。

总之可以肯定,在一些植物的表皮细胞外侧壁上有外连丝的存在,不管它们是否具有原生质性质,它作为外界溶质进入细胞内部的通道是毋庸置疑的。然而,近些年来,由于实验技术和实验方法的局限性,国内外对外连丝结构和功能的研究进入了一个瓶颈阶段,如何采取突破性的方法来研究外连丝,该问题无疑是当前外连丝结构和功能研究领域的重要课题之一。

类外连丝结构的存在、 起源、形态与功能

外连丝作为细胞与外界质外体空间物质交流的通道密布于表皮细胞外侧壁上,这是植物体与外界环境相沟通的一种方式;而就一个完整的植物个体

来说,其内部同样的也存在各种质外体空间。后者与邻接的内部细胞的关系犹如外界环境与表皮层细胞那样,Franke^[13]曾认为这些与内部空间(如胞间隙、导管/伴胞、通气腔等)相邻的壁上有外连丝和胞间连丝共存,并把前者称之为内向的细胞通道(endocytodes)。然而实际上在常见的胞壁超微结构图像上,即使在与胞间隙等质外体相邻接的界面上,一般均看不到与表皮细胞外侧壁中孔道相类似的结构。事实上,植物体发育成长中。在不同组织间或同一组织不同位点间呈现此盛彼衰或局部细胞衰亡,从而出现了局部与有限的质外体空隙,此时原先联结相邻细胞的胞间连丝经历着何种变化,它在存活细胞界面胞壁上是否依然存在和继续发挥其功能确是一个有意义的问题。在以往的有关文献中首先被我们考虑的是嫁接植物中胞间连丝重新形成的现象,尽管他们最终在各种细胞间建立了共质联络,但在初始阶段砧木和接穗双方相结合层的存活细胞,其所处状态与表皮层细胞相类似;半胞间连丝在外侧壁上的形成并继续向外延伸和彼此相接着的事实给予了启示,即原生质膜与有关的胞质组分是可以主动地向胞壁上出现的纤细孔道作伸展移动的,在未达胞间沟通的情况下,胞壁孔道中可以有半连丝存在^[24-26]。上世纪 80 年代中期以来陆续见诸报道的一些研究结果表明,由于自然或人为原因在植物体中胞壁界面上出现的形态与结构异常的原生质连丝在生理上仍然是活跃的。Burnell 的试验是这方面的一个有益尝试。Burnell^[27]以机械分离法从多种禾草类 C₄ 植物叶片中分离出成条的维管束鞘细胞,多种不透膜分子探针处理试验证明,分子量为 800-900 的荧光示踪物仍可通过其壁上残留的胞间连丝进入鞘细胞内,显示出胞间连丝即使在剧烈的机械性断裂下,仍然可以保持其固有的传输功能。

Vermer 和 Mc Cully^[28]、Guinel 和 Mc Cully^[29]在对玉米根冠及黏液鞘的形态观察中,曾注意到根冠外缘层细胞胞壁上存留有胞间连丝的踪迹,但只简单的归结为胼胝质堵塞或残存的疤痕,而未予以深究。张伟成等^[30]通过对根冠细胞脱落进程的系统观察发现,根冠外层细胞胞间连丝正经历着明显的结构变动;外沿正脱落细胞与内侧存活细胞间的胞间连丝先是延伸,随后随着胞间隙扩展而断裂,前者因之脱落而散布于根际黏液质层。此时存活细胞界面胞壁上存留的胞间连丝其断裂端与质外体空间相接而内侧则仍与质膜相连并保持其固有状态,不同的是连丝通道孔径明显扩大。存活细胞分界壁的

这种特征似可与表皮细胞壁上的外连丝相比拟,或可称为类外连丝结构。利用不透膜荧光染料对其传输功能进行进一步检验的结果发现,萤黄(lucifer yellow,LYCH)可进入细胞并分散于整个细胞质中,表明壁上存留的连丝是荧光染料进入细胞的唯一可能的共质通道。细胞内原生质经壁上通道向外穿越,也显示根冠细胞壁上类似外连丝的孔道确实是开放的并与根际环境相沟通。

类外连丝结构亦常在胚胎发育过程中被观察到。小麦在胚胎发育早期,其原胚基端局部细胞解体,打破了原胚与外围珠心间、与胚乳细胞间的共质隔绝。原胚特定定位点处存活细胞分界壁上存留的类外连丝结构与周围介质直接相接着,建立了原胚细胞与相邻哺育组织解体产物间的共质联系;利用不透膜荧光物质萤黄和阳离子铁蛋白作示踪物观察到外源物可以通过非跨膜运输方式进入细胞内部,显示了物质可经这种存留的类外连丝进一步迁入共质体的可能性^[31,32]。

当小麦幼胚分化时,其胚根端颈区和球状突起都呈现局部细胞的衰退与解体,随之存活组织与衰退细胞分界壁上的胞间连丝呈现类似于外连丝的状态。不透膜荧光探针能经此进入外沿多处细胞,并向内侧传输,胚根鞘外围各哺育组织细胞的解体产物有可能借助这种类似外连丝的结构向幼胚掺入^[33]。

我们实验室在研究蒜休眠过程胞间连丝的动态变化中,经透射电镜观察亦发现在衰败细胞与存活细胞间有类外连丝存在,并观察到外源不透膜的荧光分子探针萤黄进入存活细胞的迹象(未发表资料)。

植物体内由于组织/细胞间盛衰关系的变化而导致固有胞间连丝衍变为类似外连丝结构而存在于活细胞分界壁的现象迄今未受到足够的关注。传统的有关胞间连丝受损即被胼胝质封闭的观点阻碍了对这一结构予以深究。然而即使就迄今所见有限的有关文献来看,对植物体内部这一类似外连丝结构的认识在以下几方面还是可以肯定的——1.它作为分界壁上的孔道具有原生质性质,保持着胞间连丝的基本结构;2.通道并不是封闭的,拆裂的纤丝外侧端与外界质外体环境直接相沟通;3.它们仍具有共质传输功能。因之即使这些类外连丝所在处最终将为胼胝质堵塞,至少在一定有限时间内它仍可起到

共质体与质外体之间共质传输通道的作用,值得作深入的探讨。正如有作者提出的那样,有关类外连丝结构的研究将有助于对整体植物中某些衰退组织、衰退细胞的解体产物是如何为邻近存活细胞再利用的作出阐释^[34]。

参 考 文 献

- [1] Tangl, E. 1879, *Jahrb. Wiss. Bot.*, **12**: 170–190.
- [2] Overall, R. et al., 1982, *Protoplasma*, **111**: 134–150.
- [3] Friedrich, K. 1998, *Annals of Botany*, **81**: 1–10.
- [4] Schumacher, W. et al., 1939, *Bot.*, **87**: 324.
- [5] Lambert, P. 1954, *Planta (Berl)*, **44**: 147–190.
- [6] Schumacher, W. et al., 1956, *Planta (Berl)*, **47**: 47–52.
- [7] Schnepf, E. 1959, *Planta (Berl)*, **52**: 644–708.
- [8] Sievers, A. 1959, *Flora (Jena)*, **147**: 263–316.
- [9] Sievers, A. 1960, *Zeit. Naturf.*, **15b**: 49–52.
- [10] Franke, W. 1960a, *Planta (Berl)*, **55**: 390–423.
- [11] Franke, W. 1960b, *Planta (Berl)*, **55**: 525–532.
- [12] Franke, W. 1969, *Amer. J. Bot.*, **56**: 432.
- [13] Franke, W. 1971, *Residue Reviews*, **38**: 81–115.
- [14] Franke. 1961, *Amer. J. Bot.*, **48**: 683–691.
- [15] Franke, W. 1964a, *Planta (Berl)*, **63**: 118.
- [16] Tukey, H. B. 1966, *Bull. Torrey Bot.*, **93**: 385.
- [17] Schumacher, W. 1957, *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **70**: 335–342.
- [18] Panic, M. 1970, *Univ. of Bonn*.
- [19] Franke, W. 1964b, *Planta (Berl)*, **63**: 279.
- [20] Hull, H. M. 1970, *Residue Review*, **31**: 1.
- [21] Boynton, D. 1954, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **5**: 31–54.
- [22] Van Amstel A. N. M. 1996, *Plant Cell Reports*, **15** (9): 707–711.
- [23] Bregman, R. 1997, *Annals of Botany*, **80**: 525–531.
- [24] Kollmann, R. et al., 1985, *Protoplasma*, **124**: 224.
- [25] Kollmann, R. et al., 1985, *Protoplasma*, **126**: 19.
- [26] Kollmann, R. et al., 1991, *Protoplasma*, **165**: 71.
- [27] Burnell JN. 1988, *J Exp Bot.*, **39**: 1575.
- [28] Vermeer J, Mc Cully ME. 1982, *Planta*, **156**: 45.
- [29] Guinel FC, Mc Cully ME. 1987, *Plant Cell Environment*, **10**: 565.
- [30] 张伟成等, 1995, *植物生理学报*, **21**: 340–345.
- [31] 张伟成等, 1990, *植物学报*, **32**: 663–669.
- [32] 张伟成等, 1992, *植物学报*, **34**: 325–328.
- [33] 张伟成等, 1999, *植物学报*, **41**: 373–378.
- [34] 张伟成等, 2002, *植物学报*, **44**: 1068–1074.