

大豆子叶细胞超微结构的比较研究

陈 敏

苗 以 农

(大连教育学院生化系) (东北师范大学生物系)

唐 树 延

徐 豹

(长春中国科学院物理研究所) (吉林省农业科学院大豆所)

摘 要

本文选用大豆属 *Soja* 亚属的栽培大豆 (*Glycine max*) 和野生大豆 (*G. Soja*) 以及中间型 (*G. gracilis*) 为材料, 应用电子显微镜技术观察了子叶细胞伸展发育时期的超微结构特征, 发现了蛋白体形成方式的差异。栽培大豆 (品种 Harosoy) 子叶细胞蛋白体以中心单点式聚集贮藏蛋白质, 而且其合成蛋白质的运输以内质网囊泡为主。野生大豆 (Jw93-1, Jw98-2) 子叶细胞蛋白体以边缘多点式聚集贮藏蛋白质, 其合成蛋白质以直接或间接的途径运输至蛋白体内。

关键词: 大豆 超微结构 发育子叶

目前已知 *Soja* 亚属包括栽培大豆 (*Glycine max*) 和野生大豆 (*G. Soja*) 两个种。随着电镜技术的推广和应用, 有关豆类种子内蛋白质沉积基本模型的研究, 已进入超微结构阶段。豆类种子发育过程中, 子叶细胞蛋白质沉积的结构问题 (Harris, et al. 1976, 1979; Craig, Goodchild 1980; Yoo, 1980), 和蛋白体膜特征 (Mäder 1984) 的研究结果表明, 子叶细胞蛋白体起源于大液泡的亚分裂和细胞质囊泡的膨胀。在蛋白体沉积过程中伴有大量粗糙内质网和高尔基体的增多, 而且不同蛋白质组份将影响子叶细胞的超微结构 (Harris, 1976)。关于大豆发育子叶细胞超微结构的详细报道甚少, 而且仅限于成熟种子或有限的发育阶段, 未涉及 *Soja* 亚属种间子叶细胞超微结构的比较。本文描述了 *Soja* 亚属子叶细胞的超微结构, 尤其对蛋白体、内质网等发育特征进行分析, 为高蛋白育种, 和探索种间种子蛋白质沉积机制的相异性, 提供细胞超微结构的证据。

材 料 和 方 法

一、材料和种植

栽培大豆 (Harosoy) 结瘤品系, 野生大豆 (Jw93-1, Jw98-2), 野生与栽培中间型大豆 (Jw853) 4 份材料 (均由吉林省农科院大豆所生理室提供)。1986 年播种于东北师范大学实验地, 种植密度分别为栽培大豆 $60 \times 10 \text{cm}$, 野生大豆和中间型大豆 $60 \times 60 \text{cm}$ 。进行一般的田间管理。

二、电镜样品的制备和观察

自花后 15—20 天 (子叶细胞分裂停止) 开始取样, 每隔 15 天取一次, 直到子叶伸展末期。将所取籽粒的子叶切成 1mm^3 小块, 在 2.5% 戊二醛固定液 ($\text{pH} = 7.4-7.6$) 固定 6 小时, 磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 7.4-7.6$) 换洗 3 次, 历时 45 分钟。再用 2% 锇酸固定液固定 4—8 小时, 随之用磷酸缓冲液换洗 3 次, 历时 45 分钟后, 经不同浓度乙醇逐级脱水, 每级停留半小时, 100% 乙醇换 2 次, 历时 4 小时, 最后经环氧丙烷过渡到 Epon 812 环氧树脂包埋。超薄切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅水溶液双重染色后, 日立 H600 型电镜下观察。

观 察 结 果

一、栽培大豆 (Harosoy)

花后 20 天, 栽培大豆子叶细胞分裂停止。细胞高度液泡化, 有一大的中央液泡。细胞四周有一薄层细胞质带, 其细胞器未分化成熟, 仅见有油滴和内质网雏形。

花后 35 天时, 子叶细胞质丰富, 细胞器已分化成熟, 质体发达。片层结构明显 (如图 1 所示)。淀粉粒充满整个质体。粗糙内质网丰富并成束排列, 贯穿于整个细胞质中。中央液泡已分裂为众多的小液泡, 其内含物电子密度大, 并在中心有絮状沉积物聚集的现象 (见图 2 箭头), 图 3 是图 2 的局部放大电镜照片。

花后 50 天, 子叶细胞中内质网——分泌泡异常丰富。图 4 箭头示出此时栽培大豆子叶细胞内内质网膨胀成分泌泡的现象。由于结合核糖体与内质网分离而减少, 游离核糖体增多, 此时蛋白体形成均质的块状 (图 5)。细胞的质体中淀粉的比例明显下降, 叶绿体片层结构模糊。

二、野生大豆 (Jw93-1, Jw98-2)

花后 12 天, 野生大豆子叶细胞质丰富, 粗糙内质网分枝多并散在分布于整个细胞质中。其液泡内含有丰富的絮状物, 且各个小液泡边缘有众多的蛋白质沉积小体 (即称为边缘多点式聚集方式, 图 6 和图 8 小箭头所示), 并见有丰富的嗜锇颗粒存在 (图 6 中大箭头所示)。

花后 28 天左右, 子叶细胞由油滴和蛋白体块充满, 液泡消失 (图 7)。此时, 粗糙内质网仍成束排列, 结构完整, 并围绕于蛋白体周围或与蛋白体直接相连 (图 9 箭头示

出 PB 与 RER 相连)。此时细胞内高尔基体结构较发达。

三、中间型大豆 (Jw853)

花后23天,子叶细胞内油滴遍布,粗糙内质网分枝多,散在分布(图10)。液泡膜周缘有众多的凝集小体附于其上(边缘多点式聚集方式)。

花后40天,子叶细胞内蛋白体已发育为均质的团块结构,粗糙内质网围绕于或与蛋白体直接相连,其末端和中部有膨胀现象,但未见有大量分泌泡的存在。

四、相对观察结果

本文所选用的4份供试材料,由于它们生育期长短不一,为了便于研究结果的分析,我们使用相对生育期的概念。相对生育期是植物生长的相对时期,是实际花后天数与开花到成熟总天数之比。已知栽培大豆从开花到成熟需75—80天;野生大豆从开花到成熟约40—45天;中间型大豆60天左右。这样我们就可以进行种间比较。野生大豆花后12天与栽培大豆花后20天相近;野生大豆花后28天与栽培大豆花后50天相近。

讨 论

从上述观察结果中,我们可以看出中间型大豆的子叶细胞超微结构特征与野生大豆很相近,野生大豆子叶细胞在鼓粒中期,粗糙内质网(RER)分枝多,散在分布于细胞质中。其液泡内含絮状沉积物沿其液泡膜边缘多点沉积。到鼓粒后期,RER结构完整,成束排列,并有与蛋白体直接相连的现象。由此,我们可以推测野生大豆与中间型大豆子叶细胞内合成贮藏蛋白质的运输途径有两条:1)直接途径 由RER合成蛋白质后直接运至蛋白体内;2)间接途径 RER合成的蛋白质经细胞内的分泌泡系统(内质网——高尔基体,运输至液泡内沉积)。

栽培大豆与野生大豆不同,其中期RER成束排列,并且液泡内含蛋白质沉积物以中心单点式聚集;到鼓粒后期,RER膨胀,细胞质中分泌泡增多,游离核糖体增多,而且未见有RER与蛋白体直接相连现象。这些结果与Beachy(1979)总结的大豆子叶细胞特征相一致。

Britary(1969)指出了RER——核糖体的变化情况,在子叶伸展初期,膜结合核糖体较少,而到中期,膜结合核糖体数目增加5—6倍。其蛋白质合成旺盛,待鼓粒末期,其膜结合核糖体数再次减少。本供试材料的观察指出,栽培大豆(Harosoy)有类似现象,而野生大豆(Jw93—1, Jw98—2)和中间型(Jw853)子叶细胞伸展末期,其细胞内膜结合核糖体仍丰富,其蛋白质合成持续到后期,有利于种子蛋白质的大量生产。

供试4份材料的电镜分析指出:大豆属soja亚属内有两种蛋白质沉积模式 1)中心单点式聚集模式,其蛋白质合成,运输不同步。主要以内质网囊泡形式运输蛋白质,如栽培大豆(Harosoy)。2)边缘多点式聚集模式,其蛋白质合成、运输同步,在后期RER结构完整,并与蛋白体直接相连,有利于贮藏蛋白质的直接运输,(如野生大豆(Jw93—1, Jw98—2)。中间型大豆(Jw853)类似于野生大豆。但这方面的工作还需要进

一步验证。

野生大豆的蛋白质合成、运输的同步性，双途径运输和多点式聚集方式，都有助于野生大豆在较短的结荚和鼓粒时期内完成大量的蛋白质生产，这是结构和功能相适应的很好例证。

参 考 文 献

- [1] 尹田夫、刘丽君、李学湛, 1987: 大豆萌发种子下胚轴超微结构的研究. 大豆科学, 6(2): 101—104.
- [2] 郑惠玉、陈化东等, 1985: 中国野生大豆研究论文集. 吉林省农科院, 5—12.
- [3] Craig, S., D. J. Goodchild and C. Miller, 1980: Structural aspects of protein accumulation in developing peacotyledons. Three dimensional reconstructions of vacuoles and protein bodies from serial sections. Aust. J. Plant Physiol. 7: 329—337.
- [4] Harris, N., 1976: Protein body formation in cotyledons of developing cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. Ann. Bot. 40: 739—744.
- [5] Harris, N., 1979: Endoplasmic reticulum in developing seeds of *Vicia faba*. Planta. 146: 63—69.
- [6] Ladizinsky, G., 1975: Euphytica. 24: 785—788.
- [7] Mäden, M. and M.J. Chrispeels, 1984: Synthesis of an integral protein of the protein-body membrane in *Phaseolus Vulgaris* Cotyledons. Planta. 160: 330—340
- [8] Öpik, H., 1968: Development of cotyledon cell structure in ripening *Phaseolus Vulgaris* seeds. J. Exp. Bot. 19: 64—76.
- [9] Öpik, H., 1985: Ann. Bot. 56: 453—466.
- [10] Saio, K. and T. Watanabe, 1966: Agr. Biol. Chem. 30(11): 1133—1138.
- [11] Yoo, B. Y., et al., 1980: The origin of protein bodies in developing soybean cotyledons, a proposal. Protolasma. 103: 201—204.

ULTRASTRUCTURE OF COTYLEDONS OF SOYBEANS DURING DEVELOPMENT

Chen Min

(Department of Bio-chemistry, Dalian Education College)

Miao Yinong

(Department of Biology, Northeast Normal University)

Tang Shuyan

(Changchun Institute of Physics, Academia Sinica)

Xu Bao

(Soybean Institute, Jilin Academy of Agricultural Science)

Abstract

The developing cotyledon ultrastructure observed by electron-microscope was shown to be different between cultivated soybean (*G. max*)

and wild soybean (*G. soja*) on protein body depositing way. The protein bodies of developing cultivated soybean cotyledons were filled by central-single-point depositing way, and the storage protein was transported mainly by ER cisterna during cotyledons developing. The protein bodies of developing wild soybean cotyledons were filled by edge-multi-point depositing way and the storage protein was transported by direct and indirect way to protein bodies.

Key words: Soybean Ultrastructure Developing cotyledon

Explanation of Plates

ER. endoplasmic reticulum, F. fat granule, M. mitochondria, N. nucleus, P. plastid, PB. protein body, RER. ruber endoplasmic reticulum, S. starch granule, V. vacuole.

Plate 1

1. After flowering 35 day cotyledon plastid soybean. $\times 35,000$. 2. After flowering 35 day, cotyledon cell of cultivated soybean. $\times 5,000$. 3. Magnification of a part of Fig. 2. $\times 17,000$. 4. Electron micrograph with enlarged view of ER-secretory cisterna region of DA F50 cotyledon cell of the cultivated soybean. $\times 50,000$. 5. After flowering 50 day cotyledon cell of cultivated soybean. $\times 8,000$. 6. After flowering 12 day, Electron micrograph of cotyledon cell of the wild soybean. $\times 8,000$.

plate 2

7. After flowering 28—33 day, cotyledon cell of the wild soybean. $\times 8,000$. 8. After flowering 12 day, cotyledon cell of the wild soybean. $\times 16,000$. 9. After flowering 28—33 day. The phenomenon of connecting RER with PB in cotyledon cell of wild soybean. $\times 24,000$. 10. After flowering 23 day, cotyledon cell of the semi wild soybean. $\times 8,000$.

图 版 说 明

ER. 内质网; F. 脂肪粒(油滴); M. 线粒体; N. 细胞核; P. 质体; PB. 蛋白体; RER. 粗糙内质网; S. 淀粉粒; V. 液泡。

图版 I

1. 花后35天, 栽培大豆的质体电镜照片。 $\times 35,000$ 。2. 花后35天栽培大豆子叶细胞的电镜照片。 $\times 5,000$ 。3. 图2的局部放大。 $\times 17,000$ 。4. 花后50天, 栽培大豆子叶细胞内质网膨胀现象。 $\times 50,000$ 。5. 花后50天, 栽培大豆子叶细胞。 $\times 8,000$ 。6. 花后12天, 野生大豆子叶细胞电镜照片, $\times 8,000$ 。

图版 II

7. 花后28—33天, 野生大豆子叶细胞照片。 $\times 8,000$ 。8. 花后12天, 野生大豆子叶细胞电镜照片。 $\times 16,000$ 。9. 花后28—33天, 野生大豆的蛋白体与RER相连现象。 $\times 24,000$ 。10. 花后23天, 半野生大豆子叶细胞电镜照片。 $\times 8,000$ 。

写综合评述应注意的几点

1. 勿将综述与自己某一具体工作混为一体, 否则文章会变为既非综述又非科研报告。综述的重点是比较和评价, 并不是介绍自己的研究成果, 而对自己的工作放在综述中进行自我评价是不适宜的。

2. 勿做第二手综述文章。所谓第二手综述, 是只读几篇别人做的综述, 以其所引用的参考文献作为自己“读过的”参考文献, 再综合成一起或添加些个人见解的“综述”。这种综述肤浅, 无意义。

3. 没有相当的实际专业经验, 不能深刻理解参考文献, 不能形成自己的论断, 莫做综述工作。这样做出的综述不能切合实际需要。而情报工作者在辑录有关文献编译不包括作者本人论断在内的动态报导, 是完全需要的。

4. 坚持材料与观点的统一。避免材料介绍过多而评论太少, 或具体根据太少而议论过多。

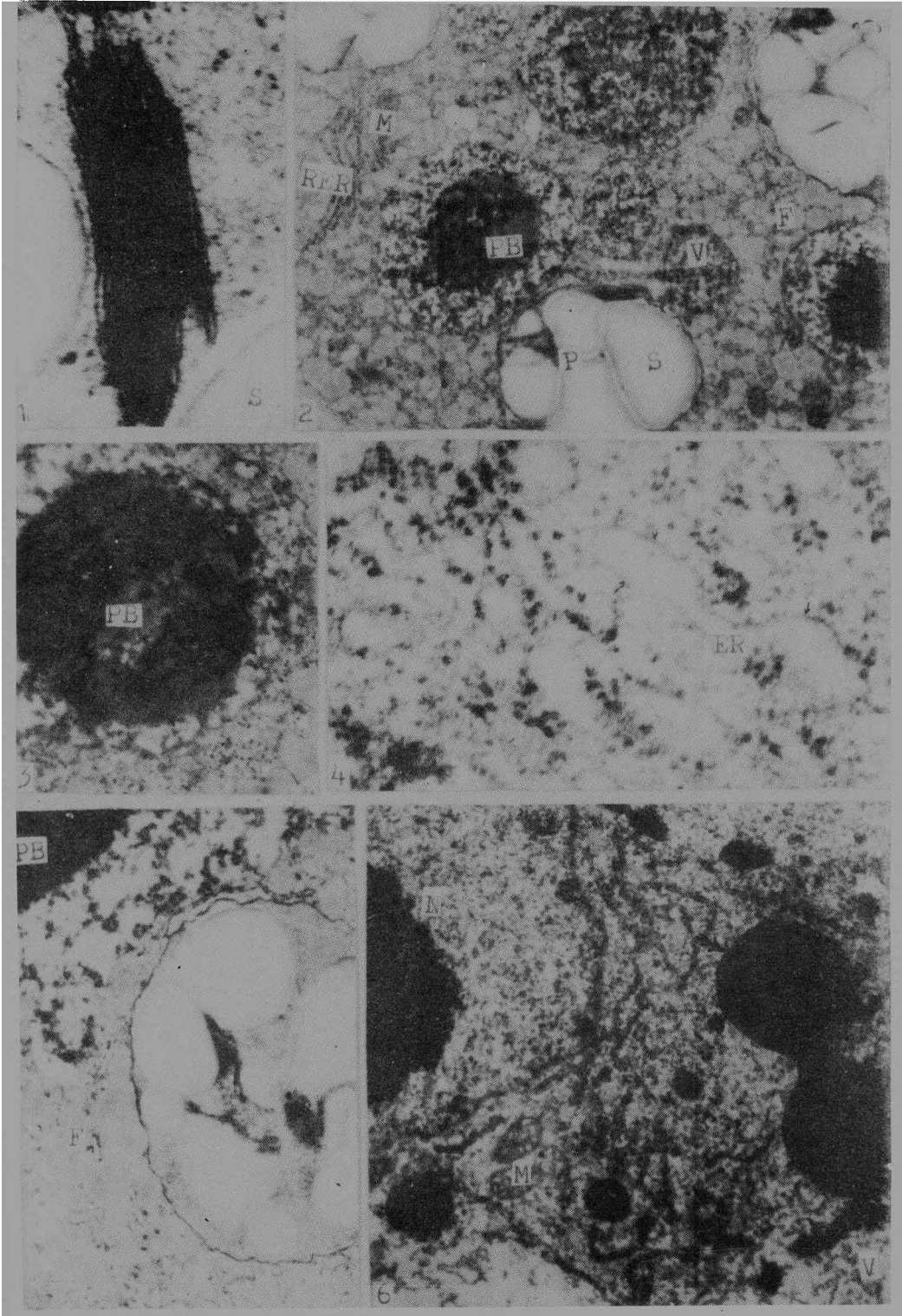
5. 译述国外情况要面向国内, 过去和现在以现在为主。

6. 理论与实践经验要统一。放眼而不虚夸, 严谨而不拘泥。既要有定量的生产数据为佐证, 又要从长远发展与理论研究方面提出方向性的论断。

7. 科技研究与经济效益的统一。要多从可推广性和可行性方面提出估计和措施, 这在过去有些综述中是缺乏的, 是脱离实际的一种倾向。

8. 提纲挈领, 突出重点。关键处细谈, 一般细节简略。比较是通过分析来进行的, 不要简单地摘抄、罗列和原文照抄。

(编者选录)



陈敏等：大豆子叶细胞结构的比较研究

Chen Min et al. : Ultrastructure of cotyledons of soybean
during seed development

Plate II

