

# 大豆超微结构的研究进展及展望<sup>\*</sup>

刘 杰<sup>1</sup> 刘丽君<sup>1\* \* \*</sup> 吴俊江<sup>1</sup> 陈伊里<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院, 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学, 哈尔滨 150030)

**摘要** 作为一种重要的研究手段, 电子显微镜能够在超微水平上直观地观察组织、细胞以至于细胞器的变化。目前电子显微镜技术已经广泛应用到大豆研究的各个方面, 如大豆生长发育机理的研究、大豆抗病机制的研究、不良环境对大豆影响的研究以及大豆遗传进化和分类等方面的研究。本文综述了以上研究的进展, 并提出了今后大豆超微结构的研究方向。

**关键词** 大豆; 超微结构; 电子显微镜

**中图分类号** S 565. 1 **文献标识码** A **文章编号** 1000—9841(2004)03—0228—04

电子显微镜的极高的分辨力和直观性是任何其它实验技术不可替代的, 如新型扫描隧道显微镜分辨率横向可达 0. 1—0. 2nm, 纵向达 0. 001nm, 可直接观察生物大分子, 如 DNA、RNA 和蛋白质的原子布阵, 和某些生物结构, 如细胞膜、细胞壁等的原子排列。目前, 电子显微镜技术已经广泛应用到大豆研究的各个方面, 如大豆生长发育机理的研究、大豆抗病机制的研究、不良环境对大豆影响的研究以及大豆遗传进化和分类等方面的研究。

## 1 大豆超微结构的研究进展

### 1. 1 大豆子叶超微结构的研究

子叶是大豆重要的贮存器官, 为种子萌发提供能量和营养物质, 对大豆种子萌发和成苗起决定性作用。子叶出土后转为同化器官, 具有光合作用功能, 为幼苗早期生长发育提供部分营养物质, 以补充因蛋白质被消化而带来的营养物质的缺乏<sup>[1]</sup>。种子萌发经历了从异养到自养的复杂的生理代谢变化。因此, 一直以来人们对大豆生长发育机理的研究大多集中于子叶萌发这一关键时期。前人已经对大豆子叶细胞的形成发育、物质变化进行了比较详尽的报道<sup>[2—5]</sup>。种子中蛋白体的起源主要有液泡起源、内质网起源和质体起源三种观点。大豆子叶蛋白体起源于液泡已经形成共识。在电镜下可观察到大豆子叶发育期间液泡被逐渐分隔, 蛋白质在小

液泡内积累, 最后形成蛋白体<sup>[6]</sup>, 子叶萌发时蛋白体降解过程完全是其形成积累途径的逆转<sup>[7]</sup>。应用电镜酶细胞化学方法可观察到大豆子叶蛋白体有内部均匀消化、内部非均匀消化和边缘消化三种方式, 而且每种消化方式与子叶蛋白体内酸性磷酸酶活性分布具有一致性<sup>[8, 9]</sup>。酸性磷酸酶是大豆蛋白体中一种酸性水解酶, 参与种子萌发和幼苗早期生长过程中的磷代谢<sup>[10, 11]</sup>, 随着萌发进程, 其活性显著增加<sup>[12]</sup>。子叶蛋白体中, 酸性磷酸酶分布呈现均匀、成簇和边缘分布三种形式, 推测这种分布可能与蛋白体中含磷物质有关。ATP 酶参与几乎所有生命体系的能量转换过程, 因而 ATP 酶活性的定位是研究细胞功能与生理代谢状态的重要手段。大豆子叶细胞的 ATP 酶活性主要定位在质膜上, 在物质的吸收与运输上起着质子泵的作用, 形成离子跨膜运输的原动力<sup>[13]</sup>。种子从休眠状态到成苗, 经历时间之短, 主要归结于酶催化代谢反应的高效性能。伴随种子萌发进程, 大量营养物质源源不断地从子叶运往胚等生长点。子叶细胞质膜 ATP 酶活性呈动态变化。酶活性高低既调控生理变化又随细胞的功能变化而改变<sup>[7]</sup>。

### 1. 2 大豆病害的超微结构研究

迄今为止, 大豆孢囊线虫病(Soybean Cyst Nematode, SCN)是在超微水平研究最深入的一种病害。早在 1973 年, Riggs 等<sup>[14]</sup>就对抗 SCN 品种 Peking 组织结构进行观察, 认为细胞壁不规则的加

\* 收稿日期: 2004—03—29

资助项目: 黑龙江省青年基金(QC 03C25); 国家“863”(2002AA 211051—2)

\* \* 通讯作者: 刘丽君, 0451—86668731, nkyssbd@mail. hl. cn

作者简介: 刘杰(1974—), 男, 遗传育种专业在读博士。

厚是寄主对孢囊线虫的抗病机制。Acedo 等<sup>[15]</sup>通过对 P-89, P-Pic 线虫群体侵染抗病寄主的组织学进行研究, 发现不同抗感品种间形成的组织结构修饰明显不同, 而且这几个抗病寄主的组织病理学反应也存在差异, 提出了不同抗病品种可能存在不同的抗性机制。Kim 等<sup>[16]</sup>比较了接种 SCN3 号生理小种后, 抗感品种的细胞结构变化, 发现在感病品种中直到线虫成熟, 合胞体是不断发育的, 感染的早期阶段, 核膨大, 内质网增多, 而后期则形成细胞壁的内生长, 而抗病品种的反应是一个坏死层环绕合胞体细胞, 并与正常的细胞区分开来, 导致合胞体坏死, 从而抑制线虫的发育。颜清上等<sup>[17]</sup>对抗 SCN4 号生理小种抗感品种根部形成的合胞体组织超微结构的研究表明, 感病品种的合胞体细胞较大, 靠近木质部导管一侧有内生长, 各种细胞器丰富, 内质网数量多, 形体长, 多为光滑型; 抗病品种合胞体细胞较小, 核糖体较多, 内质网小而少, 多为粗糙型, 细胞内出现较多的类脂肪体, 在侵染早期, 细胞质快速降解, 有时发现细胞质膜与细胞壁发生分离。在进行抗病反应超微结构研究中, 有的学者<sup>[14, 16]</sup>还观察到了一种染色较深的类脂球状体(也称嗜饿小滴), 并且认为在降解的合胞体中, 这种类脂的球状体的增加表明水解酶活性的增加, 从而引起一组细胞的细胞质降解, 结果形成的有毒物质能够杀死线虫。而颜清上认为这种脂肪类物质是细胞应激线虫分泌物产生的抗性物质。综上所述, 大豆抗线机制有两种途径: 即结构发生改变抑制线虫发育和代谢出有毒物质杀死线虫。邵伯飞等<sup>[18]</sup>对大豆与白粉病菌相互作用的超微结构研究表明, 病原菌附着胞的侵染可诱导绝大多数寄主细胞产生强烈的乳突反应, 但缺乏有效的乳突抗性。抗病寄主的细胞以过敏反应抵制病原菌的侵染。病菌初生吸器的产生往往诱导感病寄主的细胞代谢迅速增强, 甚至分化成一些结构简单但却能够进行光合作用的小型叶绿体。与菌丝相比, 病菌分生孢子和吸器的壁中只含有少量的几丁质, 而吸器外围的分枝几乎没有。

### 1.3 外界因素胁迫下大豆超微结构的研究

干旱、渍水、盐害等不良环境条件始终制约大豆的生产, 深入地研究外界因素胁迫下大豆形态和生理、生化变化, 提出抗逆措施, 具有理论和生产实践上的重大意义。近几年来, 干旱和洪涝现象在我国大豆产区发生比较普遍。干旱对植株的影响是多方面的, 主要是使植株组织脱水, 形成低水势, 大量积累生物自由基及其诱生的过氧化氢等有毒物质, 导

致膜的损伤, 细胞膜透性增加<sup>[19, 20]</sup>, 这种损害往往是不可逆的。电镜技术已能够观察到水分胁迫引起植株超微结构的变化<sup>[21, 22]</sup>。金平<sup>[23]</sup>通过电镜观察发现, 干旱导致大豆叶片栅栏组织外壁变薄, 轮廓不清楚, 而施用有机肥后, 大豆叶片栅栏组织细胞外壁增厚, 细胞轮廓清晰, 排列整齐。大豆不同品种间抗涝性存在明显差异, 渍水条件下, 抗涝品种往往表现出抗涝性状如: 根系增多、变粗、中柱鞘及形成层细胞分生能力变强, 产生大量薄壁细胞等, 而不耐涝品种表现恰恰相反。李学湛<sup>[24]</sup>通过比较不同品种根系组织细胞的超微结构, 明确了根系组织细胞间的差异与抗涝的关系, 为抗涝资源的筛选和抗涝育种提供了直观的细胞学依据。电镜观察表明: 盐胁迫下, 大豆植株脂氧化水平提高, 细胞中丙二醛含量增加, 对线粒体、内质网和细胞膜均有不同程度的损伤, 而外源脯氨酸能够提高植株抗渗透能力<sup>[25]</sup>有助于缓解这种破坏作用<sup>[26]</sup>。

### 1.4 超微结构在大豆起源、遗传进化和分类方面的应用

花粉和种皮的扫描电镜形态分析揭示的花粉、孢子、果实、叶片等表面的形态特征一直是植物分类研究的重要依据<sup>[27]</sup>。Chunqi L.<sup>[28]</sup>发现野生大豆种皮呈现蜂巢状或网状结构, 而栽培大豆种皮光滑, 半野生大豆介于二者之间。庄炳昌等<sup>[29]</sup>用扫描电镜对 *Glycine* 和 *Soja* 亚属植物花粉形态进行比较研究, 发现 *Glycine*、*Soja* 两亚属的花粉外壁超微结构有明显差别。庄炳昌等<sup>[30]</sup>又对大豆 *Soja* 亚属植物花粉形态进行了比较观察, 发现 *Soja* 亚属中不同进化类型大豆花粉的沟、内孔及纹饰也存在明显的差别, 认为 *G. soja*、*G. gracilis*、*G. max* 之间存在种的差别。陆静梅<sup>[31]</sup>通过扫描电镜还发现大豆次生木质部中的射线结构、导管的侵填体分布等, 从野生、半野生到栽培大豆呈连续性变化。上述研究为大豆种、亚种之间的分类、遗传进化关系提供了依据。

大豆染色体具有数量多, 体积小, 难于分散等特点, 在常规光镜下, 人们很难了解它的精细结构。关于栽培大豆和野生大豆随体染色体的数量, 不同的观察, 结果是不一致的<sup>[32-34]</sup>。弭忠祥等<sup>[35]</sup>对栽培大豆与野生大豆染色体超微结构的比较研究, 结果表明, 栽培大豆具随体的染色体数目在观察 210 个根尖生长点细胞中有 80% 以上带有 1~2 个随体染色体, 而野生大豆大多有 4 个具随体的染色体。电镜下染色体的轴结构, 是由许多细丝构成的网络状

结构。

### 1.5 连作条件下大豆超微结构变化

连作对大豆产量和品质的影响机理已十分清楚,而连作对大豆形态结构尤其是超微结构的影响报道相对较少。于颖等<sup>[36]</sup>研究表明连作条件能够导致大豆叶绿体光合膜受到损伤或转化成了黄化体,光合作用减弱,而施硒能够缓解此症状。童朝阳等<sup>[37]</sup>通过透射电镜观察发现,大豆连作导致叶绿体基粒片层结构破坏,淀粉粒积累,基粒片层结构出现“空隙区”。而合理施用复合肥能减轻因连作而对大豆叶片叶绿体基粒片层结构造成的损伤,为促进大豆叶片的光合作用创造了条件。

### 1.6 大豆超微结构其他方面研究中的应用

随着新型电镜设备的发明和电镜技术的发展,电子显微镜技术的应用领域正在逐步扩大,尤其是和分子生物学等实验技术的综合应用,更表现出其巨大的作用。陈锦清等<sup>[38]</sup>将电子显微技术作为辐照处理的鉴定手段。虽未能观察到辐射击穿细胞的直接证据,但出现膜渗透性改变、质壁分离及其内质网膨大等现象,间接证明了细胞自身防御体系被打破,有利于外源基因导入。杨茂成等<sup>[39]</sup>对秋水仙素诱导的野生大豆根尖观察发现细胞中的质体、液泡、内质网在状态、布局 and 数量上发生很大变化,细胞不再具有分生特征而进入分化状态。张桂茹等<sup>[40]</sup>以不同光合特性类型大豆为材料,利用光学显微镜、扫描电镜和透射电镜等观察到不同光合特性品种在叶片厚度、叶绿体数目、气孔数目和大小以及维管束中木质部的导管数目均存在差异。杨茂成等<sup>[41]</sup>研究了野生大豆根尖中柱鞘细胞分化的超微结构并与离体条件下脱分化细胞进行比较,对处于自然条件下的细胞脱分化问题进行了探讨。马盾等<sup>[42]</sup>通过电镜观察认为大豆硬粒和品种的种皮结构有关。

## 2 大豆超微结构研究的展望

大豆超微结构已经成为大豆生长发育机理、抗病机制、遗传进化等方面研究的重要内容。然而,电子显微镜技术仅仅应用大豆研究的几个方面,研究体系尚不系统,笔者认为今后还需在以下几方面加大研究力度。

### 2.1 大豆生长发育中后期超微结构的变化

目前大豆超微结构的研究仅限于大豆生长初期,而有关大豆生长发育中后期的大豆各器官、细胞的超微水平变化研究较少,尤其是大豆生长发育中

后期生理生化变化更是知之甚少,因此完善这一阶段的研究有助于全面理解大豆生长发育机理,为生产实践提供理论依据。

### 2.2 积极拓展大豆病害超微结构的研究

大豆病害种类繁多,目前仍有多种病害抗病机制研究不清楚。电子显微镜能够在超微水平上对病原、侵染途径、组织、器官甚至细胞变化进行观察。但据文献显示目前电子显微镜仅限于大豆孢囊线虫病、白粉病等少数几种病害的研究。因此,拓展电子显微技术在大豆病害的研究范围具有重要的意义。

### 2.3 加强电子显微镜技术和其它学科或技术的交互应用

直观性和极高的分辨力是电子显微镜最大的优点。但电子显微镜只能提供细胞、细胞器或生物大分子形态结构特征或原子布阵依据,而并不能最终解释这种特异的结构或构象特殊含义。如:电子显微镜下,同一种蛋白质分子的原子排列或者说构象存在差异,但只有建立在细胞生物学、分子生物学等学科理论之上,我们才能确切地解释这种结构特异性的真正含义。因此,加强电子显微镜技术和其他学科或技术的交互应用显得格外重要。

## 参考文献

- 高扬,赵耕春,郑易之,等.萌发大豆种子中子叶细胞内质体发育与解体的变化[J].大豆科学,1994,13(3):225—229.
- Saito, G. Y., Y. C. Chang, L. L. Walling, et al. Chloroplast development and nuclear gene expression in cotyledons of soybean seedlings [J]. New Phytol, 1990, 144: 547—554.
- Tombs, M. P., Protein bodies of soybean [J]. Plant Physiol, 1967, 42: 797—813.
- Treffry, T., S. Klein, M. Abrahamsen. Studies of fine structural and biochemical changes in cotyledons of germinating soybeans [J]. Biol. Sci., 1967, 20: 859—868.
- 陈敏,苗以农,唐树延,等.大豆子叶细胞超微结构的比较[J].大豆科学,1989,8(2):153—158.
- 郑易之.大豆子叶发生的细胞学和组织化学的研究[J].植物学报,1989,31(8):590—595.
- 苏金为,王湘平.大豆种子萌发过程中子叶细胞超微结构和 ATP 酶活性动态研究[J].电子显微学报,2002,21(2):114—117.
- 郑易之,高扬,李晶,等.萌发大豆种子中蛋白体的消化与酸性磷酸酶活性的分布[J].东北师范大学(自然科学版),1996(1):83—86.
- 郑易之,赵耕春,高扬,等.发育大豆子叶细胞中酸性磷酸酶的亚细胞定位[J].大豆科学,1996,15(2):114—119.
- Lott J N A, M S Buttrose. Globoids in protein bodies of legume seed cotyledons [J]. Plant Physiol, 1978, 5: 89—111.
- Młodzianowski, F. The fine structure of protein bodies in lupine

cotyledons during the course of seed germination[ J] . Plant physiol, 1978, 86(S. ): 1— 13.

12 Ullah A H J, D M Gibson. Purification and characterization of acid phosphatase from cotyledons of germinating soybean seeds[ J] . Arch Biochem Biophy, 1988, 260: 514— 520.

13 王延枝, 斯海文. 植物细胞液泡膜 HAT Pase 的初步研究[ J] . 武汉大学学报(自然科学版), 1987, (1): 101— 106.

14 Riggs R. D., K. S. Kim, I. Gipson. Ultrastructural changes in Peking soybeans infected with *Heterodera glycines* [ J] . Phytopathology 1973, 63: 76— 84.

15 Acedo J. R., V. H. Dropkinand, V. D. Luedklers. Nematode population attrition and histopathology of *Heterodera glycines* soybean associations[ J] . Nematologica, 1984, 16(1): 48— 57.

16 Kim, Y. H., R. D. Riggs, K. S. Kim. Structural changes associated with resistance of soybean to *Heterodera glycines*[ J] . Nematologica, 19(2): 177— 187.

17 颜清上, 陈品三, 王连铮. 中国小黑豆抗源对大豆孢囊线虫 4 号生理小种抗性机制研究[ J] . 植物病理学报, 1997, 27(1): 37— 41.

18 邵伯飞, 胡东维, 李德葆, 等. 大豆与白粉病菌相互作用的超微结构与细胞化学[ J] . 电子显微学报, 2001, 20(6): 744— 747.

19 宋英淑. 大豆对干旱胁迫的抗性效应[ J] . 大豆科学, 1987, 6(4): 277— 282.

20 McKersie B D, Stinson R H. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seed [ J] . Plant Physiology, 1980, 66: 316— 320.

21 Maroti I, Tuba Z, Csik M. Changes of chloroplast ultrastructure and carbohydrate level in *festuca*, *achillea* and *sedum* during drought and after recovery[ J] . Plant Physiol, 1984, 116: 1— 10.

22 Vieira Da Silva. Water stress, ultrastructure and enzymatic activity. In: Water and Plant Life. Ecological Studies, 1976, 19: 207— 224. Berlin, Springer Verlag.

23 金平. 有机肥对水分胁迫下大豆几种生理指标和茎叶组织超微结构的影响[ J] . 大豆科学, 1997, 16(1): 76— 79.

24 李学湛. 渍水条件下不同抗性大豆根组织细胞结构的观察研究[ J] . 大豆科学, 1998, 17(3): 276— 279.

25 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸积累及其可能的意义[ J] . 植物生理学通讯, 1984(1): 15— 21.

26 贺岩, 李志岗, 陈云昭, 等. 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆离体胚再生活植株生理特征及线粒体结构的影响[ J] . 大豆科学, 2000, 19(4): 314— 319.

27 田清震, 盖钧镒. 大豆起源与进化研究进展[ J] . 大豆科学, 2001, 20(1): 54— 59.

28 Chunqi L. A comparative study on the seed coat structure of *Soja* [ J] . Acta Agriculture Boreali— Sinica, 1995, 10(supplement): 64— 69.

29 庄炳昌, 惠东威, 王玉民, 等. 中国不同纬度不同进化类型大豆 RAPD 分析[ J] . 科学通报, 1994, 23, 2178— 2180.

30 庄炳昌, 王玉民, 徐豹, 等. 大豆 *Soja* 亚属植物花粉形态的比较观察[ M] . 作物学报, 1997, 23(1): 111— 113.

31 陆静梅. 中国大豆属植物拮抗逆境的演化结构研究[ D] . 南京农业大学博士学位论文, 南京, 1997.

32 Palmer R. G. A root tip squash technique for soybean Chromosomes[ J] . Crop Science, 1973, 13, 389— 392.

33 Ladizinsky, G., Newell C. A., Hymowitz T. Giemsa Staining of Soybean Chromosome[ J] . Hered 1979, 70: 4159— 4163.

34 郑惠玉, 陈瑞阳. 带有四个随体的二倍体野生大豆[ J] . 大豆科学, 1984, 3(1): 81— 824

35 弭忠祥, 陆印, 王春海, 等. 栽培大豆与野生大豆染色体超微结构的比较研究[ J] . 黑龙江农业科学 1999, 1: 1— 3.

36 于颖, 刘元英, 罗盛国, 等. 重盐胁迫下晒对大豆叶绿体超微结构和叶片中微量元素含量的影响[ J] . 应用生态学报, 2003, (14) 4: 573— 576.

37 董朝阳, 韩丽梅, 鞠会艳, 等. 大豆专用肥对轮作、连作大豆叶片超微结构的影响[ J] . 1998, 17(4): 358— 362.

38 陈锦清, 胡张华, 吕慧能, 等. 辐照处理对大豆悬浮细胞超微结构的影响[ J] . 浙江农业学报, 1997, 9(5): 240— 245.

39 杨茂成, 丛斌, 赵建华, 等. 秋水仙素诱导的野生大豆根尖细胞超微结构变化[ J] . 武汉植物学研究 1997, 15(1): 15— 18.

40 张桂茹, 杜维广, 满为群, 等. 不同光合特性大豆叶的比较解剖研究[ J] . 植物学通报, 2002, 19(2): 208— 214.

41 杨茂成, 丛斌, 许萍, 等. 野生大豆根尖中柱鞘细胞脱分化的超微结构初探[ J] . 复旦学报(自然科学版), 1996, 35(6): 665— 669.

42 马盾, 刘健, 周宏玲. 新疆大豆硬粒的形成因素及超微结构[ J] . 大豆科学, 1995, 14(2): 101— 106.

PROGRESS AND PROSPECT OF RESEARCH ON SOYBEAN ULTRASTRUCTURES

Liu Jie   Liu Lijun   Wu Junjiang   Chen Yili

(1. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 2. Northeast Agricultural University 150030)

**Abstract** Changes of organization, cell and organelle could be directly observed by means of electron microscope at the level of ultrastructure. Electron microscopy had been applied in every field of soybean research, such as mechanism of growth and development, disease resistance, effect of bad environment on soybean, as well as genomic and evolution and classification. This paper reviewed above research and presented direction of ultrastructure of soybean research.

**Key words** Soybean; Ultrastructure; Electron microscope