

大豆 (*Glycine max* L. Merr.) 萌发 种子下胚轴超微结构的研究*

尹田夫 刘丽君

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

李学湛

(黑龙江省农业科学院电镜室)

摘 要

本文对萌发大豆 (*G. max*) 下胚轴细胞超微结构的发生发育动态进行了电镜连续系列观察。研究结果指出大豆下胚轴露出种皮后24小时内,含淀粉粒的原质体,初生线粒体和脂体,颗粒体均已出现。24—28小时内,淀粉粒集团倍增,脂体数目增多,线粒体结构趋于完整并出现许多分裂相,初生内质网开始形成,颗粒体消逝。48—72小时内,原质体所含的淀粉粒、淀粉粒集团以及脂体渐趋消逝;线粒体结构完整,密度增加且分裂增生频繁,与此同时可见到新生线粒体;随着内质网伸长,其外膜上结合的核糖体增加;此时,初生高尔基体已形成。72小时后,内质网配列并贯于胞质中;核糖体与高尔基体数目明显增多、体积增大。

研究结果还指出大豆线粒体的发生可能有三种途径:即预存的线粒体于原质体上修复或原质体演化,因此原质体为线粒体的前体;线粒体在个体发育过程中,以分裂方式自我复制;随着组织和器官的建成线粒体不断地由质体形成。

大豆 (*G. max*) 普通细胞形态已为国内外许多植物解剖学家(李正理,1973,1983;胡适宜,1983;高信曾等,1982;陈机,1961;K·伊稍,1973;Johnson,1973;王金陵等,1982;王馥兰,1964;尹田夫等,1986,所研究。这些研究为进一步开展大豆细胞超微结构研究奠定了重要基础,提供了宝贵资料。由于电子显微镜的应用,大豆细胞形态学的研究已跨入到超微结构阶段。大豆脂体(Bair等,1980),蛋白体(Tombs,1967)及种子形成过程中大豆子叶蛋白体的起源(Yoo等,1980),大豆种子形成及萌发过程中子叶的超微结构和生化变化(Webster等1977;Treffry等,1967)以及线粒体的发生与发育(胡友纪等,1983)等曾进行了研究。但是,上述研究均未涉及到大豆种子萌发过程中下胚轴细胞超微结构的发育动态变化。据目前所知有关此方面的研究国内外尚未见报导。本研究的目的在于探索大豆萌发种子下胚轴细胞原质体、线粒体、脂体、高尔基体、内质网与核糖体,以及颗粒体等重要细胞器的发育动态变化。进而为研究大豆种子萌发过程中预存态的细胞器、大分子及酶系统的修复、活化及其在水合态下重新

* 国家自然科学基金资助项目。

本文于1986年12月3日收到。This paper was received in Dec. 3, 1986.

** 朱光新同志曾协助电镜操作,在此致谢。

合成;贮藏物的动员与传递;蛋白质合成;ATP产生和呼吸及其中间产物的利用等细胞内部一系列生理生化变化提供细胞超微结构证据。

材料与方 法

材料与材料处理:本研究所试大豆材料为“呼80-1.001”。将精选的种子经消毒后用20℃清水浸种6小时,然后置于25℃恒温培养箱中催芽。当种子下胚轴突破种皮24、48和72小时时分别取根端生长区,观察表皮、皮层和近中柱鞘细胞群。

电镜样品制备和电镜观察:样品在4%戊二醛固定液中固定4小时,然后用二甲酚酚盐缓冲液换洗5次,历时2小时。再用2%锇酸固定2小时,随之用重蒸馏水冲洗3次。后经不同浓度的酒精逐级脱水,最后由氧化丙烯过渡到Epon 812环氧树脂进行定向包埋,在LKB8800Ⅲ型超薄切片机中连续切片,切片经醋酸氧钽和柠檬酸铅双重染色后在H300型电子显微镜下观察。

结 果 与 讨 论

一、淀粉粒及原质体的动态

电镜观察表明萌发的大豆种子下胚轴突破种皮后24小时内可见到完整的细胞结构,细胞核位于细胞中央,核仁处于核中部。此时,在细胞原生质中可观察到大量的含淀粉粒的原质体(图版I-1,1)。48小时内,出现淀粉粒集团(图版I-1,2)。由此说明大豆下胚轴露出种皮前,作为呼吸基质的密三糖、水苏四糖和蔗糖已耗尽,便开始动员贮藏于叶中的淀粉。当下胚轴露出种皮72小时时,原质体上所含淀粉粒及淀粉粒集团逐渐消逝。这说明大豆子叶中贮藏淀粉水解作用即将终止。

二、线粒体的发生发育动态

大豆种子下胚轴露出种皮24小时内,电镜观察可见线粒体已开始发育。初生线粒体结构简单,无内嵴,呈囊泡状(图版I-1,3)。24小时后,内嵴开始形成(图版I-1,4)。48小时内,线粒体内嵴增多,基质区渐趋缩小,嵴膜增厚。此时,线粒体出现许多分裂相(图版I-1,5);72小时内,线粒体分裂增生频繁(图版I-1,6),线粒体密度增大,内嵴充分发育,基质区更趋缩小(图版I-Ⅱ,1)。总之,线粒体的发育是循序渐进的,即线粒体的结构由简单到复杂,基质区由大到小,内嵴由少到多,嵴膜由薄到厚。

电镜观察发现当大多数线粒体发育成熟时,仍可见初生线粒体。这说明随着下胚轴生长,新线粒体在不断地形成。

电镜观察还发现在原质体或含淀粉粒的原质体上有初生内嵴形成,进而发育为初生线粒体(图版I-Ⅱ,2)。据此可初步确认原质体为线粒体的前体。同时观察到由原质体演化的线粒体多产生分裂相(图版I-Ⅱ,2)。

鉴于大豆下胚轴线粒体发生的电镜系列观察,大豆线粒体的发生可能具有三种途

径: 细胞中预存的线粒体于原质体上修复或由原质体演化而成, 即原质体为线粒体的前体; 线粒体在个体发育过程中是连续的, 以分裂方式自我复制; 随着下胚轴的生长, 线粒体不断地由新质体形成。

三、脂体动态

在大豆种子吸水萌发过程中, 脂体出现见于下胚轴突破种皮24小时以内。48小时内则出现大量脂体(图版 I—II, 3)。72小时后, 由于贮藏脂肪的动员, 脂体大小和数量均减少且逐渐消失。

众所周知, 在贮存脂质的细胞中, 脂质降解全过程分别在脂体、线粒体及乙醛酸体中进行。在脂体中进行脂解作用生成脂肪酸和甘油; 在乙醛酸体中进行脂肪酸氧化和琥珀酸的合成; 在线粒体中琥珀酸转变为草酰乙酸; 草酰乙酸在细胞质中的代谢结果产生蔗糖。基于脂质降解产物的再利用, 因而油脂则成为下胚轴在生长初期细胞、器官及组织建成所需要的贮备物质, 同时也是呼吸作用所需的物质。

四、内质网与核糖体的发育动态

在下胚轴露出种皮 24—48 小时内, 初生内质网较短小, 无序排列, 其上无核糖体(图版 I—II, 4)。48小时后, 内质网不断发育, 其数量和长度均明显增加, 并结合较多的核糖体(图版 I—II, 5)。72小时后, 内质网充分发育, 多条配列贯于细胞质中(图版 I—II, 6)。

蛋白质的合成是下胚轴生长的前提条件。只有在合成蛋白质的机构——核糖体出现并与 RNA 连结起来, 方可进行蛋白质的合成。有人认为蛋白酶是在内质网上合成的。因此, 内质网和核糖体的出现标志着蛋白质的合成开始。

五、高尔基体的发育动态

电镜观察表明高尔基体的出现见于下胚轴突破种皮48小时以后。初生的高尔基体单体外膜平滑, 单体顶端多生有泌囊, 此时, 单体数目较少, 一般 4—5 条(图版 I—II, 5)。当下胚轴伸长 72 小时时, 高尔基体密度增加, 单体条数一般增加 2—3 条(图版 I—III, 1)。

电镜观察发现许多高尔基体单体两端附着许多淀粉粒且为之所消化。由此可推断高尔基体的泌囊可能释放淀粉水解酶, 而使淀粉粒水解。

电镜观察注意到下胚轴露出种皮72小时以后, 高尔基体单体外膜呈微波状。

六、颗粒体的动态

当下胚轴突破种皮24—48小时内, 电镜观察发现细胞质中可见到大小不等的颗粒体出现(图版 I—III, 2, 3,)。48小时后渐渐消失。关于颗粒体的发育动态及生理功能尚待研究。

主要参考文献

- [1] 胡友纪等, 1986, 大豆种子萌发过程中线粒体的发生和发育. 植物生理学报. 9: 117—122.
- [2] 尹田夫等, 1981, 不同抗旱型大豆茸毛适旱变态与茎形态解剖的比较研究. 大豆科学. 5: 223—225.
- [3] Bair, C. W., et. al., 1980, Electron microscopy of soybean lipid bodies. J. Amer. Oil Chem. Soc.
- [4] Toms, M. O., 1967, Protein bodies of the soybean. Plant Physiol. 42: 797—813.
- [5] Yoo, B. Y., et. al., 1980, The origin of protein bodies in developing soybean cotyledons: a proposal. Protoplasma 103: 201—204.
- [6] Treffry, T., et. al., 1967, Studies of fine structural and biochemical changes in cotyledons of germinating soybeans. Aust. J. Biol. Sci. 20: 859—868.
- [7] Webster, B. D., et. al., 1977, the ultrastructure of dry and imbibed cotyledons of soybean. Amer. J. Bot 64: 1286—1293.

AN ULTRASTRUCTURAL STUDY ON HYPOCOTYLEDONARY
AXIS OF GERMINATING SOYBEAN (*Glycine max* L, Merr) SEEDS

Yin Tianfu Liu Lijun Li Xuezhao
(Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin)

Abstract

The objective of this study is to attempt to demonstrated ultrastructural origin and development in hypocotyledonary axis of germinating soybean seeds by electron microscope.

Results of the present study indicated that plastid with starch grain (SG), elementary mitochondria (M), lipid body (LB) and globoid (G) had appeared in 24 hours after hypocotyledonary axis breaking through seed coat. In 24—48 hours group of SG and LB increased, mitochondria composition completed gradually and a lot of dividing shape of mitochondria appeared, elementary endoplasmic reticulum (ER) formed, globoids (G) vanished. In 48—72 hours SG on plastids (P), group of SG and LB vanished gradually, mitochondria composition had completed, density of mitochondria and its dividing rate increased. At the same time, new mitochondria formed, ER extended and ribosome on ER appeared, elementary golgi body (GB) formed. After 72 hours ER arranged and run through cytoplasm, the number and size of ribosome (R) and GB increased evidently.

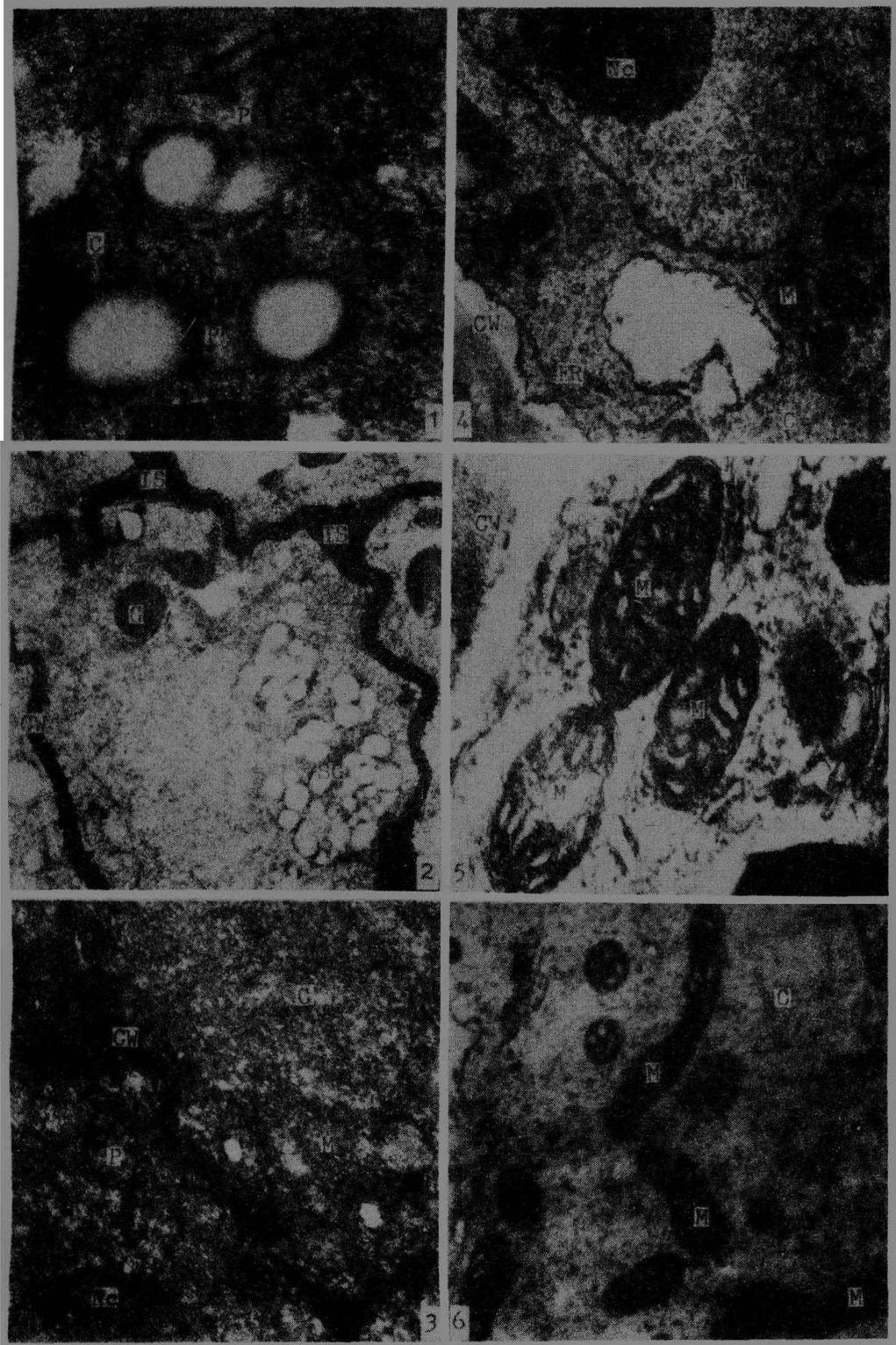
Basing upon the observation by electron microscope we can concluded that there are three path of mitochondria origin the evolution from plastid to mitochondria; a self duplication through mitochondria division; the forming of new mitochondria.

* The Project Supported by National Natural Science Foundation of China

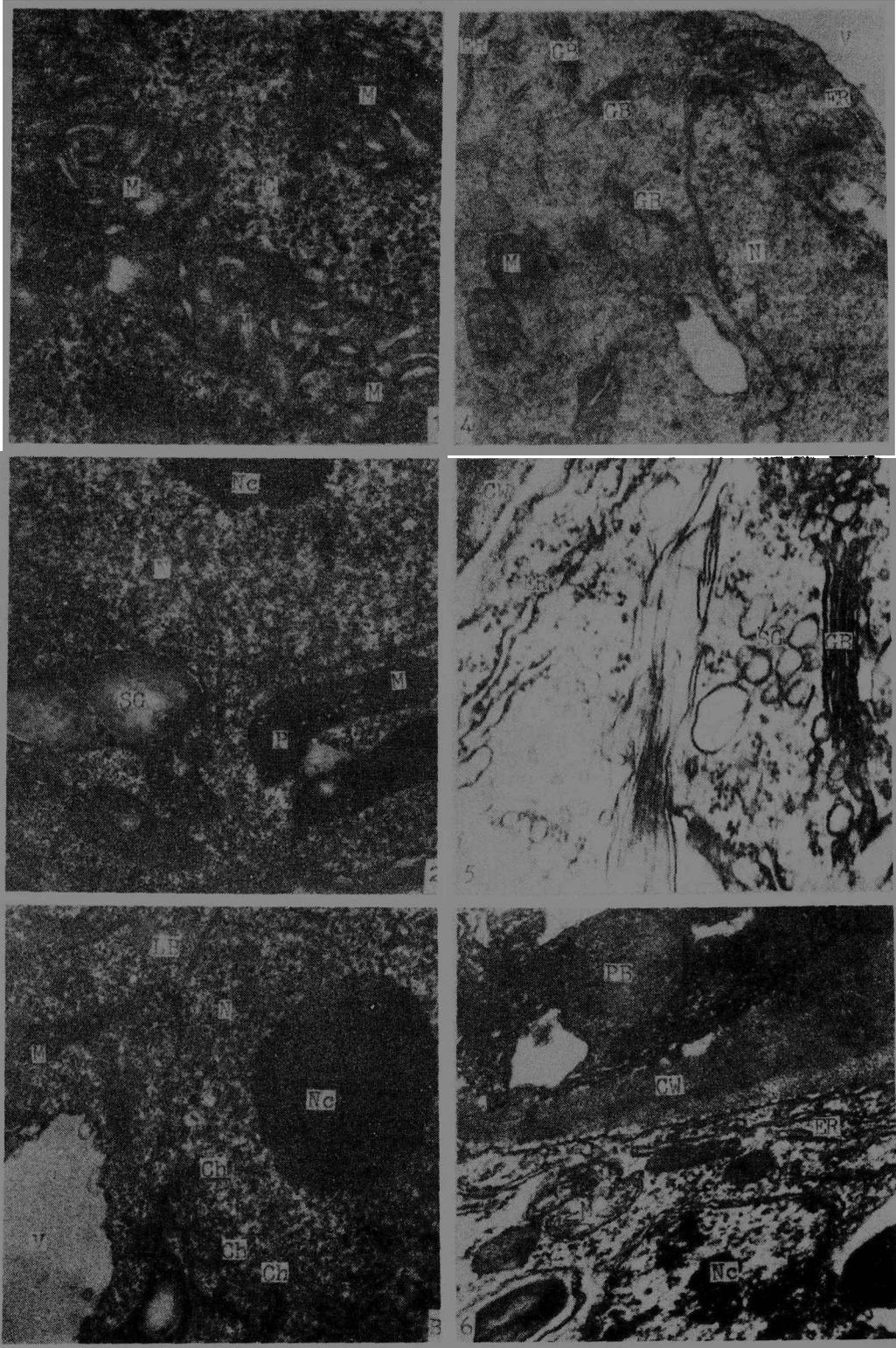
尹田夫等: 大豆 (*Glycine max* L. Merr.) 萌发种子下胚轴超微结构

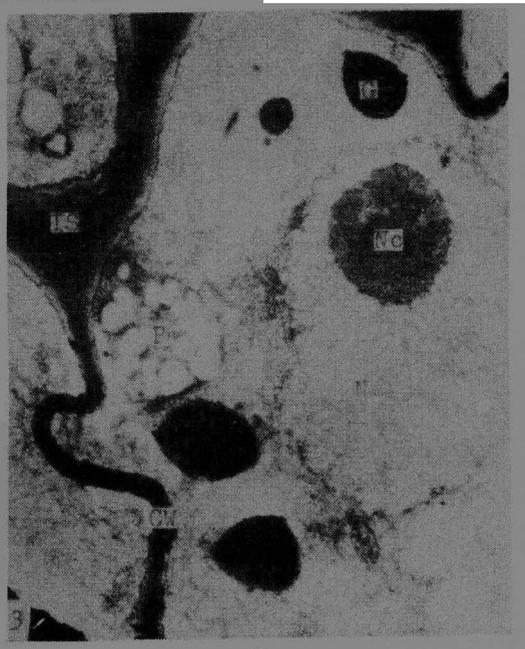
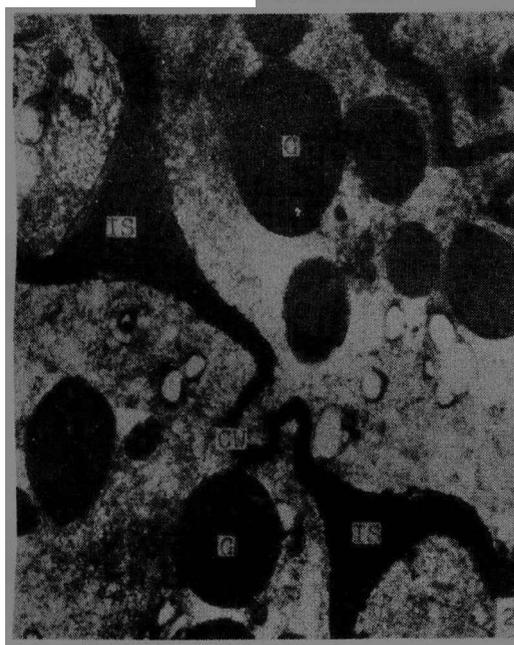
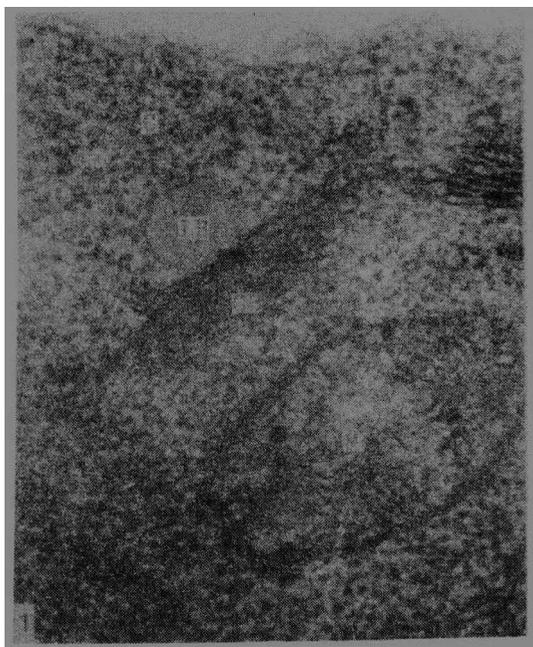
Yin Tianfu et al: Ultrastructural study on hypocotyledonary axis of germinating soybean (*Glycine max* L. Merr.) seeds

图版 I— I plate I— I



图版 I-II Plate I-II





1. 具泌囊体的高尔基体, $\times 70,000$

Golgi body with secretory sac, $\times 70,000$

2.3. 颗粒体, $\times 10,000$

Globoids, $\times 10,000$

尹田夫等：图版说明

CW. 细胞壁 cell Wall, N. 细胞核 nucleus, Nc. 核仁 nucleolus, C. 细胞质 cytoplasm,
P. 原质体 plastids, SG. 淀粉粒 starch grain, IS. 细胞间隙 intercellular space,
PL. 原生质膜 plasmalemma V. 液泡 vacuoles, M. 线粒体 mitochondria, LB.
脂体 lipid body, ER. 内质网 endoplasmic rebiculum, GB. 高尔基体 golgi body,
G. 颗粒体 globoids, PB. 蛋白质体 protein boidies, Ch. 染色质 chromatin, Pd.
胞间连丝 plasmodesmata

图版 I — I plate I — I

1. 含淀粉粒原质体, $\times 30,000$
Plastids With starch grain, $\times 30,000$
2. 淀粉粒集团, $\times 10,000$
Group of starch grain, $\times 10,000$
3. 呈囊泡状的初生线粒体, $\times 15,000$
Elementary mitochodria of capsule expressed, $\times 15,000$
4. 开始形成内嵴的初生线粒体, $\times 20,000$
Elementary mitochondria formed crista from the begmning, $\times 20,000$
5. 6. 具分裂相的线粒体, $\times 50,000$, $\times 20,000$
Mitochondra With dividing shape, $\times 50,000$, $\times 20,000$

图版 I — II plate I — II

1. 发育成熟的线粒体, $\times 50,000$
Developing mitochondria in the strcture and function, $\times 50,000$
2. 由原质体演化的线粒体, $\times 15,000$
Mitochondria from plastids, $\times 15,000$
3. 脂体, $\times 15,000$
Lipid body, $\times 15,000$
4. 初生内质网, $\times 12$ $\times 20,000$
Elementary endoplasmic reticulum, $\times 20,000$ $\times 20,000$
5. 具核糖体的内质网, $\times 40,000$
Endoplasmic reticulum with ribosomes, $\times 40,000$
6. 配列状态的内质网, $\times 40,000$
Endoplasmic reticulum arraged and run through cytoplasm, $\times 40,000$