

# 大豆子叶发育过程中,子叶细胞内造粉质体分化和脱分化过程的电镜观察\*

郑易之

(东北师范大学生物系)

## 摘 要

大豆开花后 18~43 天,子叶细胞含叶绿素。细胞内原质体可逐渐积累淀粉粒;基质内有基粒和基质片层。原质体发育为造粉质体。这种造粉质体属“绿色造粉质体”。开花后 53~63 天,造粉质体内淀粉粒数目减少,体积缩小;片层结构肿胀,并逐渐解体。造粉质体脱分化为原质体。造粉质体的分化和脱分化过程与蛋白质和脂类的积累密切相关。

**关键词** 大豆,子叶发育;造粉质体;淀粉粒

豆科植物种子发育可分为四个时期:1. 形态发生和细胞分裂时期;2. 子叶细胞伸长时期;3. 子叶积累营养物质时期;4. 种子成熟时期<sup>[7,9,12~14]</sup>。子叶细胞停止分裂以后,其内部逐渐开始积累,蛋白质和脂类,同时胞质内的各种细胞器也将发生显著的变化,其中包括质体的发育<sup>[7~9,14]</sup>。前人曾采用光镜细胞化学方法和生化分析技术,对不同发育时期大豆子叶中淀粉含量和淀粉酶活性的消长变化进行了系统的定量分析<sup>[1,6,16]</sup>。Bills 等(1963)通过透射电镜看到子叶细胞内淀粉粒体积有明显变化<sup>[8]</sup>。但是关于此过程中,子叶细胞内造粉质体的形成、发育及其代谢变化,目前尚未见详细报告。在本文中,我们将通过透射电镜观察,系统描述大豆子叶发育过程中,子叶细胞内造粉质体的分化和脱分化过程。

## 材 料 和 方 法

大豆(*Glycine max*, L),品种“吉林三号”种植在东北师大实验田内。自开花时挂牌标

\* 本文于 1991 年 1 月 10 日收到。

This paper was received on Jan. 10, 1991.

记。

开花后 18~33 天,每 5 日取样一次;开花后 33~63 天,每 10 日取样一次。新鲜子叶经徒手切片后,置于“Nikon”荧光显微镜下观察叶绿素自发荧光的强弱。

电镜样品的制备:将新鲜子叶切成  $1\text{mm}^3$  小块,固定于 2.5%戊二醛溶液(用 0.2mol/l 磷酸盐缓冲液配制,pH7.2)中 12~24 小时;磷酸盐缓冲液冲洗 3 次;然后固定于 2%锇酸溶液中 5 小时;乙醇及丙酮系列脱水;Epon812 环氧树脂渗透包埋。用 LKB-5 型超薄切片机切片。切片厚度为 50~70nm。醋酸铀-柠檬酸铅双重染色。在 Hitachi-600B 型透射电镜下观察照相。

## 观 察 结 果

一些作者和我们都曾报告了大豆开花后 15 天左右,大豆胚的分化已基本完成<sup>[1,10,12,15]</sup>;大豆开花后 16~18 天,子叶细胞停止分裂<sup>[2,8,12]</sup>。此时,子叶呈绿色。经荧光显微镜检测,可见子叶细胞内有较强的叶绿素荧光。透射电镜观察结果表明,子叶细胞中原质体的数目很多,它们随机分布于液泡之间或液泡与细胞壁之间的薄层胞质中(图 1)。原质体多呈圆球形或长椭圆形,横切面直径约  $1\mu\text{m}$  左右。外被双层膜,基质密度较大,其中分布着 1~2 层片层结构(图 2)。有的原质体呈变形虫样(图 2、3)<sup>[3]</sup>或多分枝状(图 4)。开花后 23 天,原质体的基质中出现了由 5~10 层类囊体片层垛叠的基粒和横贯质体纵长的基质片层;并开始出现 1~3 个淀粉粒(淀粉粒直径约为  $0.1\sim0.5\mu\text{m}$ )(图 5)。这样,原质体发育为造粉质体。有的造粉质体可分裂为二(图 6)。此时,细胞内开始积累贮藏蛋白质<sup>[1,2,4]</sup>和油体(图 5、6)。开花后 28 天,造粉质体内基粒片层明显增多;淀粉粒数目增加,体积显著增大,使造粉质体的双层膜向胞质突出(图 7)。随着子叶的进一步发育,造粉质体中淀粉粒体积进一步增大。到开花后 43 天时,造粉质体的基质空间内几乎完全被大小不等的淀粉粒充满;片层结构明显减少,脂质体开始形成。造粉质体最大可达  $8\sim10\mu\text{m}$ (图 8)。开花后 53 天,子叶呈黄白色。子叶细胞内没有或仅有微弱的叶绿素荧光。造粉质体内基质疏松,片层结构开始肿胀,淀粉粒体积明显减少(图 9)。到开花后 63 天(种子完全成熟)时,子叶细胞中质体为近球形,体积缩小,直径约为  $2\sim4\mu\text{m}$ 。它们夹于大量蛋白体和油体之间。质体内基质均匀,疏松片层结构消失,但偶尔可见到 1 个小淀粉粒存在(图 10)。这样,造粉质体脱分化为原质体。

## 讨 论

### 一、大豆子叶发育过程中造粉质体的分化和脱分化过程

从本实验观察结果来看,大豆开花后 18~23 天,子叶细胞内变形虫样原质体(图 2、3),它们可分裂为二,从而增加质体的数目。多分枝状质体(图 4)可能也是一种分裂状态的质体,其结果将形成多个质体。Opik(1968)在开花后 16 天的菜豆子叶中也看到正在分

裂的变形质体<sup>[14]</sup>。

电镜观察结果表明,大豆开花后 18~43 天,原质体发育为造粉质体;开花后 53~63 天,造粉质体脱分化为原质体。这种大豆子叶发育不同时期造粉质体的分化和脱分化过程与前人报告的该发育时期子叶中淀粉含量和淀粉酶活性变化趋势一致<sup>[1,8,16]</sup>。

大豆子叶中淀粉的积累先于蛋白质和脂类<sup>[1,10]</sup>。开花后 18~53 天,子叶开始合成并大量积累蛋白质和脂类。但此期间蛋白质和油类的合成并不能消耗由叶片运输来的大量光合产物—碳水化合物。后者以淀粉形式暂时积累于子叶细胞中的造粉质体中。随着种子的成熟(开花后 53~63 天),大豆叶片黄化、干燥,叶片的光合产物显著减少。而子叶细胞造粉质体内积累的淀粉动员出来用于蛋白质和脂类的合成。由此可见,子叶细胞中造粉质体的分化和脱分化过程与蛋白质和脂类的积累、与叶片的光合能力密切相关。

## 二、“绿色造粉质体”

Macleod (1962)曾在光镜下看到菟丝子属植物的茎和鳞叶细胞中有一种绿色的含淀粉的颗粒。他称之为“绿色淀粉粒”。秦晓霞等(1988)在南方菟丝子的茎端细胞中也看到有叶绿素的绿色颗粒。这种质体不仅含淀粉粒,而且含有 3~5 个类囊体组成的基粒。因此质体中的叶绿素可结合于基粒类囊体膜上,组成具有光合功能的色素系统。他用“绿色造粉体”来定义这种含叶绿素并兼行光合功能的“特殊造粉体”<sup>[5]</sup>。在本实验中,我们看到开花后 18~43 天的子叶细胞中有叶绿素;电镜观察结果表明,质体内除有大量淀粉粒存在,还有由 5~10 层类囊体片层组成的基粒。推测子叶细胞中的质体可能与秦晓霞报道的“绿色造粉体”一样,是兼有一定光合功能的特殊造粉质体。

## 参 考 文 献

- [1] 郑易之、何孟元、郝水,1989,大豆子叶发生的细胞学和组织化学的研究。植物学报,31(8): 590~595
- [2] 郑易之、何孟元、胡阿林、郝水,1990,大豆子叶细胞中由液泡发育成蛋白体的不同方式。植物学报,32(2): 97~102
- [3] 郑易之,1990,大豆子叶细胞中变形质体形成和发育过程。电子显微学报,9(3): 40
- [4] 林忠平等,1989,利用免疫荧光法研究大豆种子发育过程中 11S 和 7S 蛋白的积累。中国科学, B 辑, 285~288
- [5] 秦晓霞等,1988,南方菟丝子质体超微结构,发育与功能的研究。植物学报,30(3): 254~258
- [6] Asams, C. A. et al., 1980, Starch deposition and carbohydrase activities in developing and germinating soya bean seeds. Ann. Bot. 45, 577~582
- [7] Bain, J. M. and F. V. Mercer, 1966, Subcellular organization of the developing cotyledons of *Pisum sativum*. Aust. J. Biol. Sci., 19, 49~67
- [8] Bils, R. F. and R. W. Howell, 1963, Biochemical and cytological changes in developing soybean cotyledons. Crop. Sci., 3, 304~308
- [9] Briarty, L. G., D. A. Coult and D. Boulter 1969, Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba* J. Exp. Bot., 20, 358~372
- [10] Carlson, J. B., 1973, Reproduction. In "Soybean Improvement, Production and Uses." (B. E. Caldwell, ed.), American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp. 81~92
- [11] Macleod D. G., 1962, Some anatomical and physiological observations on two species of *Cuscuta*. Trans. and Proc. Bot. Soc. Edinburgh, 39, 302~315

- [12] Meinke, D. W., J. Chen and R. N. Beachy, 1981, Expression of Storage—protein genes during soybean seed development. *Planta* 153, 130~139
- [13] Norton, G., 1978, *Plant Proteins* (中译本,“植物蛋白”。殷蔚英等译,1983,科学出版社)
- [14] Öpik, H. 1968, Development of cotyledon cell structure in ripening *Phaseolus vulgaris* seeds *J. Exp. Bot.*, 19, 64~76
- [15] 镰田悦男,1952 a,大豆に於ける子実の发育过程。(1)特に其の组织学的观察。日本作物学会纪事。20,296~298
- [16] 镰田悦男,1952 b,大豆に於ける子実の发育过程。(2)特に其の显微化学的观察。日本作物学会纪事。20,299~302

## ULTRASTRUCTURAL EVIDENCE OF AMYLOPLASTS DIFFERENTIATION AND DEDIFFERENTIATION IN COTYLEDON CELLS OF DEVELOPING SOYBEAN

Zheng Yizhi

(Department of Biology in Northeast Normal University, Changchun, 130024)

### Abstract

From 18—43 days after flowering (DAF), Chlorophyll was contained in amyloplasts of soybean cotyledon cells. In the stroma of amyloplasts there were some big starch grains, granal and stromal lamellae. In this way, proplastids developed to amyloplasts, which is termed as "green amyloplasts". From 53~63 DAF, starch grains in amyloplasts decreased in number and in size. The lamellae in the stroma expanded and broke down. The process of amyloplasts differentiation and dedifferentiation is related to accumulation of storage protein and oil.

**Key words** Soybean; Developing Cotyledon; Amyloplasts; Starch Grains

### 图 版 说 明

1. 开花后 18 天的大豆子叶细胞的一部分。原质体(PL)数目很多,它们随机分布于液泡(V)之间或液泡与细胞壁(CW)之间的薄层胞质中。M,线粒体;N,细胞核。标尺:2 $\mu$ 。

2—4. 开花后 18 天,大豆子叶细胞中的球形原质体、变形虫样原质体(图 2、3)和多分枝状原质体(图 4)。原质体基质中有不发达的片层结构(LA)。标尺均为:0.5 $\mu$ 。

5. 开花后 23 天的子叶细胞中,造粉质体(AP)的基质中有基粒片层(LA),并开始出现淀粉粒(S)。OB,油体。标尺:0.5 $\mu$ 。

6. 分裂中的造粉质体(AP)(开花后 23 天)。OB,油体。标尺:1 $\mu$ 。

7. 开花后 28 天,子叶细胞中造粉质体内有大淀粉粒(S);片层结构(LA)明显增多。标尺:0.5 $\mu$ 。

8. 开花后 43 天,子叶细胞中造粉质体(AP)充满淀粉粒(S),片层结构(LA)减少,脂质

体(PG)出现。标尺:1 $\mu$ 。

9. 开花后 53 天,造粉质体(AP)中淀粉粒(S)减小;片层结构(LA)开始膨胀,解体。标尺:0.5 $\mu$ 。

10. 开花后 63 天(成熟种子),原质体中基质疏松、均匀。无片层结构,偶尔可见 1~2 个小淀粉粒(S)。PB,蛋白体;OB,油体。标尺:1 $\mu$ 。

### Explanation of Plates

Fig. 1. A part of cotyledon cells of 18 days after flowering (DAF). Many proplastids (PL) were random located in the thin cytoplasm between central vacuoles(v) and between vacuole and cell wall (CW). M. mitochondria. N, nucleus. Bar=2 $\mu$

Fig. 2—4 In cells of 18 DAF. Note: spherical proplastids, amoeboid plastids and brached proplastids. In the stroma of proplastids, there were undeveloped lamellae (LA). Bar=0.5 $\mu$

Fig. 5. In cell of 23 DAF. In the stroma of amyloplastids, granal lamellae (LA) and starch grains appeared. OB, Oil body. Bar=0.5 $\mu$

Fig. 6. A dividing amyloplasts (AP) 23DAF). OB, Oil body. Bar=1 $\mu$

Fig. 7. In cell of 28 DAF. The size of starch grains and the number of lamellae apparently increased. Bar=0.5 $\mu$

Fig. 8. In cell of 43 DAF. Amyloplasts were filled with some big starch grains. Plastoglobuli (PG) appeared, but lamellae (LA) decreased. Bar=1 $\mu$

Fig. 9 In cell of 53 DAF. The size of starch grains (S) changed to smaller ones. Lamellae began to expand and broke down. Bar=0.5 $\mu$

Fig. 10. In cell of 63 DAF. (mature seeds), no lamellae and small starch grains were visible in the stroma of proplastids (PL). PB, Protein body; OB, Oil body. Bar=1 $\mu$

### 欢迎订阅 1993 年《中国油料》

《中国油料》由中国农科院油料作物研究所主办。本刊为多作物、多学科的油料作物专业科技期刊。主要刊登油菜、大豆、花生、芝麻、向日葵、特种油料作物的科技论文、研究报告、应用技术、科技简讯、简报、综述、品种介绍、国外科技等栏目。

读者对象:从事油料作物科技工作的研究人员、院校师生、技术推广和生产管理等部门人员。本刊为季刊,公开发行,每期定价 2 元,全年 8 元,代号 38-13,全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接寄款到本刊编辑部订购(湖北武昌保集安油料所,430062)



