

甜菊质体发育过程的超微结构研究*

洪维康 陈睦传 汪德耀

(厦门大学细胞生物研究室)

提 要

观察了甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertani)质体发育过程的超微结构变化、黄化幼芽质体的原片层体,为小管组成的网状“晶格体”,“质体中心”逐渐弥散,形成放射状排列的片层结构。质体的被膜出现突起的芽体,可能是质体增殖的一种方式。至幼叶转绿后,“质体中心”弥散消失,类囊体基本形成,原片层体转化为片层结构。随着叶片的成长变绿,基粒片层和基质片层的明显分化,基粒垛叠层增多,光合膜系十分发达。

在幼叶和正在伸展的叶片细胞内,可以观察到叶绿体的分裂成为哑铃形,这是叶绿体增殖的主要途径。

关键词: 质体; 原片层体; 基粒片层

甜菊为一种喜温、耐温、需要一定漫射光的短日照多年生草本菊科植物。叶片含有甜菊糖苷、是一种双萜配糖体,其甜度为蔗糖的300倍,具有低热量和高甜度的特点,有较高的药用价值和食品工业的经济价值。其糖苷主要贮存于叶片细胞内。叶绿体是植物光合作用的细胞器,作物的经济产量主要是通过叶绿体的光合作用而得到的。

我们选择甜菊为材料,曾经观察不同叶龄细胞叶绿体的超微结构变化^[1]。本文着重探索甜菊黄化幼苗的质体,在不同光照转绿过程中成长为叶绿体的超微结构变化。

材料和方法

供研究的甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertani)幼小植株,主要取自福建省亚热带植物研究所试验田,部分材料用种子萌发于培养皿进行培养。选取生长6天的甜菊初生叶片,实验材料分别选取下列各部分:(1)暗生长下的黄化幼芽,长约0.4cm,分别光照4小时、24小时;(2)幼小叶、第二对叶片,长约0.8cm,光照48小时;(3)小叶、第三对叶片,长约2cm;(4)成长叶,长约3.5cm,叶片完全伸展,呈现绿色。上述材料分别取样,切取黄化幼芽、幼小叶和成长叶片中段1mm的小块,用2.5%戊二醛固定5小

本文于1985年2月9日收到。

* 本文系中国科学院基金委员会资助课题[(83)生准字第231号]研究内容之一,文章摘要曾发表在“中国细胞生物学会论文汇编”(1983)。

时。经过磷酸缓冲液洗3-4次后,转入2%锇酸后固定2小时。经乙醇系列脱水,环氧树脂Epon 618或Epon 812包埋,LKB-8800Ⅲ超薄切片机切片。用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染后,在JEM-100cx和H-500电子显微镜下观察照相。

观察结果

甜菊黄化幼芽照光4小时后,在分生细胞内的双层膜的内层向内褶,然后形成一些小管,这些相邻的小管彼此联接在一起成为“原片层体”。小管有序地排列成为立体结构的网状“晶格体”或称为“质体中心”(图版I-1),其间包含有许多的小类核糖体颗粒。这个时期的质体基质中含有许多小泡,由小泡融合形成扁平囊。

黄化幼芽照光24小时后,原片层体内的网状排列小管逐渐向各个方向放射出线状排列的片层。此时“质体中心”开始弥散,有逐渐消失的趋势,“小泡”亦离散,类囊体膜开始形成(图版I-2)。接着是“原片层体”逐渐消失,已经趋向解体(图版I-3);另一个前质体的“原片层体”正在处于解体的过程,“小泡”完全离散,具有1至2层的类囊体形成(图版I-3箭头所示)。

这个时期前质体一端被膜向外凸出,隆起一个小球体,状如出芽,称为“芽孢小体”(图版I-4);同时前质体被膜边缘向内褶,形成具有片层结构的类囊体(图版I-4箭头所示)。

幼小叶片照光至呈现绿色时,“原片层体”逐渐消失,类囊体膜形成垛叠的基粒(图版II-5)。

幼叶至完全呈现绿色,叶绿体的结构趋向复杂,基粒垛叠层达到3-5层,类囊体膜普遍发育为成长的叶绿体(图版II-6,7)。这个时期叶绿体内的光合膜系分化处于完善阶段,基粒片层和基质片层明显分化,发育成为叶绿体结构。

在成长叶片细胞内,叶绿体已经完全分化,光合膜系发达,垛叠的类囊体数目较多,叶绿体呈现椭圆形。每个基粒含有比较多的基粒片层,其间分布的基质片层亦十分明显(图版II-8,图版II-9)。

在幼叶中可以看到叶绿体的分裂图象,这种分裂是叶绿体增殖的主要途径。分裂的过程在叶绿体中部凹陷进行的,然后成为哑铃形(图版II-10,11)叶绿体的类囊体膜分化已达到完善,并出现嗜锇颗粒。在叶片伸展的细胞内,叶绿体分裂亦十分明显,叶绿体外膜由中部向内凹陷,成为哑铃形,犹如细胞无丝分裂一样,分裂形成两个叶绿体(图版II-12),叶绿体基粒片层与基质片层已经完全分化,淀粉粒形成。

讨论

关于质体发育的超微结构研究已经有很多报道^[3, 6, 11]。早期的研究认为,质体发育是在有光的条件下,叶绿体是从微小的前质体分化而来的。Frey-Wyssling^[7]研究蕴藻细胞,把500-5000 Å的颗粒称为原质体或前线粒体。因为在分生细胞中线粒体或前质体必须长达1 μm时,其内部结构才开始出现,但是还没有形态上的特征可以将这两种颗粒分辨出来。随着电镜技术的发展,研究质体发育进一步深入,逐步阐明在分生细胞中的质体都是来源于直径为0.5 μm的原质体。原质体内膜向内褶而形成扁平小囊或

小泡。在光照条件下,原质体的小泡数目增加并相互融合形成片层。在黑暗中生长的原质体,其内膜内褶分离成一个个小泡,小泡逐渐变成规则的管子,相邻的小管彼此联接在一起成为原片层体,它是一种网状“晶格体”。

甜菊黄化幼芽在光照4小时的分生细胞内,呈现为具有网状结构的原片层体(图版I-1),在质体中出现小泡。Weier^[12, 13]提出原片层体是一个类晶体形状,它的结构单位为六角星状,每个角上连结着四条管。在甜菊质体发育过程中,可以看到质体被膜的内膜内褶形成小泡(图版I-3,4箭头所示)。Bradbeer^[13]研究菜豆初生叶片前质体,证实被膜的内膜产生内褶形成膜的多孔片层。甜菊黄化幼苗照光24小时后,原片层体的“质体中心”弥散,向各个方向放射出线状排列的片层,此时类囊体膜逐步形成(图版I-2)。Bradbeer^[4]认为菜豆的黄色体大约一半膜的组成是有规则排列网状的片层,并存在同心圆排列的多孔片层(类囊体)。左宝玉^[11]观察匈牙利小黑麦照光4小时的前质体也看到放射状排列的片层图象。

Newcomb^[10]认为原片层体的作用可能充当贮存体,贮存的物质用于片层的形成。

对于原片层体形成叶绿体片层的途径可能存在两种过程:(1)原片层体的组成物质直接发生分子重组,形成片层,这些片层与原片层体相连接,类似由原片层体直接伸出;(2)同时,原片层体弥散,弥散物质分布于整个基质中,这些弥散物质组成片层。离原片层体远处可以与紧靠原片层体处同时形成片层(图版I,3),可能是由于这些弥散物质和基粒中的小泡参与作用。原片层体消失时,质体内的片层为数还少,其后片层的形成可能有两途径:①质体被膜参与片层形成;②分布于基质中的原片层体弥散物质形成片层。

关于叶绿体的增殖问题,Green^[14]在丽藻(*Nitella*)的节间细胞用显微缩时电影拍摄叶绿体的分裂过程,认为叶绿体的分裂是在中间形成缢痕而引起的。其后Cran^[15]和Leech^[16]在菠菜叶片细胞观察叶绿体分裂过程都得到证实。我们在甜菊幼叶以及正在伸展的叶片细胞中,看到叶绿体分裂图象(图版III-10,11),有些叶绿体呈现哑铃形,并且片层结构发达,出现淀粉粒(图版III-12)。这是叶绿体增殖的主要途径。

此外,在甜菊的前质体发育阶段,看到质体被膜向外突起,形成一个具有膜状的芽体。左宝玉^[11]在匈牙利小黑麦的前质体发育过程,观察到有多层双膜结构的“芽孢状小体”。在叶肉细胞的前质体中出现类似无性繁殖中出芽增殖方式的情况尚未见到报道,可能是叶绿体增殖的一种方式。

参考文献

- (1) 左宝玉、段续川, 1981, 叶绿体膜的结构与功能V不同倍体小麦叶绿体膜在生物发生中的超微结构变化, 植物学报, 23(3): 441-446.
- (2) 洪维康、陈随传、陈绍澍、汪德耀, 1984, 甜菊不同叶龄细胞叶绿体超微结构研究, 植物学报, 26(1): 109-111.
- (3) Bradbeer J. W., Ireland H. M. M., Smith J. W., Rest J. and Edge H. J. W., 1974c, Plastid development in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*, II. Development during growth in continuous darkness, New phytol. 73: 263-270.
- (4) Bradbeer, J. W., 1977, Chloroplasts-structure and development, in "The Molecular Biology of Plant Cells" edited by H. Smith, Blackwell, London, 74-78.
- (5) Cran, D. G. and Possingham, J. V., 1972a, Two forms of division profile in spinach chloroplasts,

Nature, Lond, 235, 1424

- (6) Engelbrecht, A. H. P. and T. E. Weier, 1967: Chloroplast development in the germinating safflower (*Carthamus tinctorius*) Cotyledon. Amer. J. Bot. 54: 844-856.
- (7) Frey-Wyssling, A., 1961: Submicroscopic morphogenesis of plastids. Recent Advances in Botany Vol. I, 737-740, University of Toronto press.
- (8) Green, P. B., 1964: Cinematic observation on the growth and division of chloroplasts in *Nitella*. Amer. J. Bot. 51: 334-342.
- (9) Leech, R. M., 1976: The replication of plastid in higher plants. In "Cell Division in Higher Plants" (ed. M. M. Yeoman), Academic press, 137-147.
- (10) Newcomb, E. H., 1967: Fine structure of protein storing plastids in bean root tips. J. Cell Biol. 33: 143-163.
- (11) Possingham, J. V., 1980: Plastid replication and development in the life cycle of higher plants. Ann. Rev. plant physiol. 31: 113-129.
- (12) Weier, T. E. and D. L. Brown, 1970: Formation of the prolamellar body in 8-day dark-grown seedlings. Amer. J. Bot. 57: 267-275.
- (13) Weier, T. E., R. U. Sjoland and D. L. Brown, 1970: Changes induced by low light intensities on the prolamellar body of 8-day dark-grown seedlings. Amer. J. Bot. 57: 276-286.

ULTRASTRUCTURAL STUDY DURING PLASTID DEVELOPMENT OF STEVIA REBAUDIANA BERTANI

Hong Weilian Chen Muchuan and Wang Deyao

(Research Laboratory of Cytobiology, Xiamen University)

Abstract

The ultrastructural changes during the developing process of *Stevia rebaudiana* Bertani has been observed.

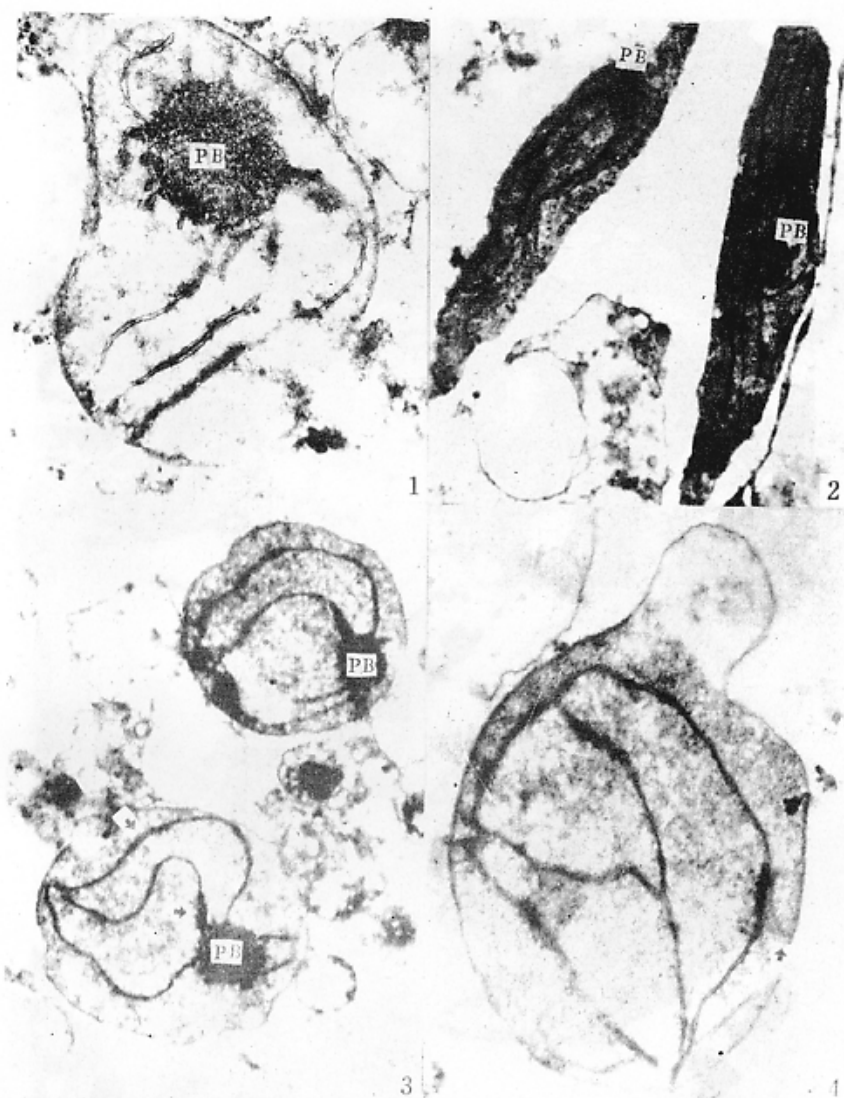
The "prolamellar bodies" in the bud etioplast consist of netted "lattice bodies" formed by tubules; the "plastid center" disperses gradually, forming radius arranged lamellar structure. The plastid envelope appears protruding gemma-like body, probably being a kind of plastid proliferation.

After the young leaf has turned green, the dispersion of "plastid center" disappears, the thylakoid forms on the whole, and the "prolamellar body" transforms into lamellar structure.

As the leaf grows green, grana lamella and stroma lamella are both differentiated apparently; grana lamella are being increasingly piled up, photosynthetic membrane systems are quite developed.

In the young leaf and in the extending leaf-cell, the division of the chloroplasts can be observed, forming dumb-bell shapes—the principal means of the proliferation of chloroplasts.

Key words: Plastid; Prolamellar body; Grana lamella



Ch. 叶绿体 Cw. 细胞壁 M. 线粒体 PB. 原片层体 S. 淀粉粒 V. 液泡

1. 黄化幼芽细胞的原片层体, 由小管组成的网状“晶格体”。×16700

2. 黄化幼芽细胞的原片层体, 质体中心弥散, 具有较多的片层。×10000

3. 黄化幼芽细胞的原片层体, 质体中心处于弥散逐渐分化, 类囊体膜开始形成。×12800

4. 黄化幼芽细胞前质体, 出现芽体。×18000

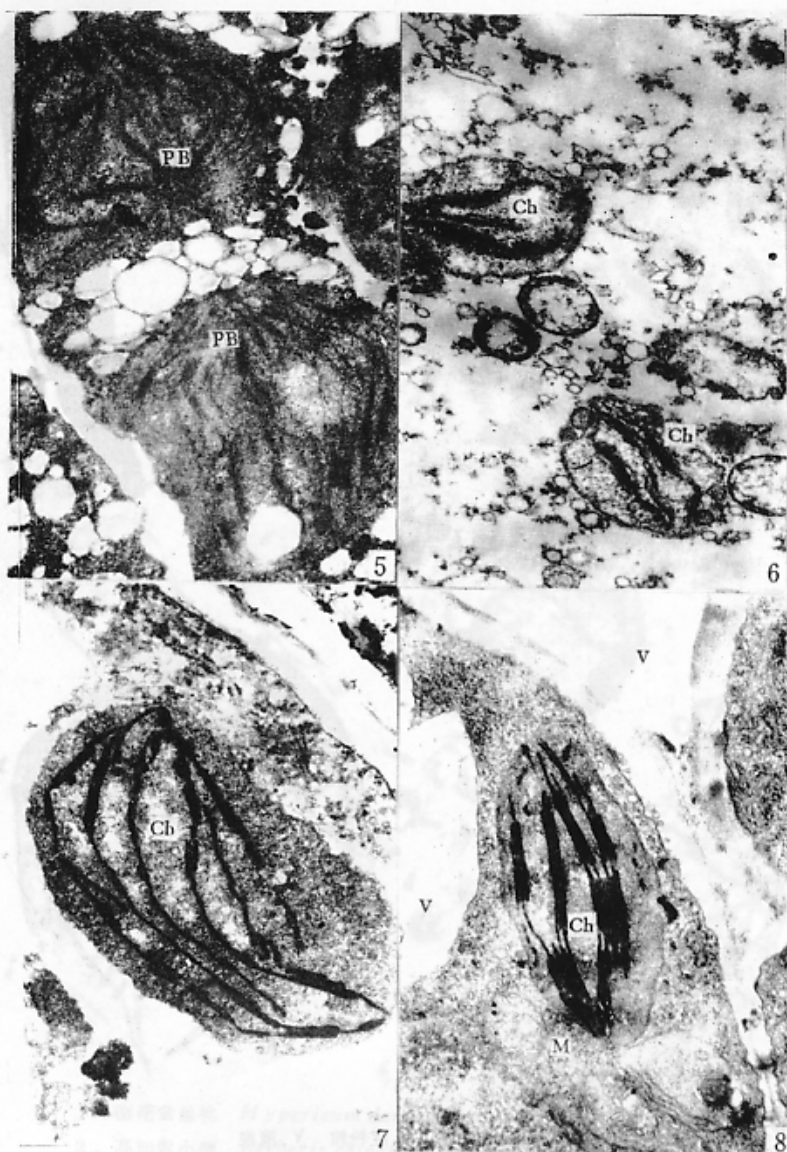
Ch. Chloroplast, Cw. Cell wall, M. Mitochondria, PB. Prolamellar body, S. Starch, V. Vacuole

1. Prolamellar body in etiolated young bud-cell, meshlike lattice-body consisting of tubules. ×16700

2. Prolamellar body in etiolated young bud-cell, the plastid center dispersing, with more lamellae. ×10000

3. Prolamellar body in etiolated young bud-cell, the plastid center being dispersing and differentiating gradually, the thylakoid membrane beginning to be formed. ×12800

4. The proplastid of etiolated young-leaf cell appears gemma-like body. ×18000



5. 幼叶细胞前质体，类囊体膜已经形成。×13300 6. 幼叶细胞叶绿体，形成垛叠基粒。×12000

7. 幼叶细胞叶绿体，基粒片层和基质片层明显分化。×20000 8. 成叶细胞叶绿体，基粒片层增多。×14700

5. The proplastid of young-leaf cell, with thylakoid membrane having formed ×13300

6. The chloroplast of young-leaf cell, with stacked grana having formed, ×12000

7. The chloroplast of young-leaf cell, grana lamella and stroma lamella distinctly differentiated. ×20000

8. The cell developed chloroplast, with grana lamella increasing. ×14700



9. 成叶细胞叶绿体，发达的基粒片层之局部放大。×37500

10. 处于分裂的幼叶细胞叶绿体，类囊体膜形成。×15000

11. 处于分裂的幼叶细胞叶绿体，比较发达的类囊体。×15000

12. 正在伸展叶片细胞的叶绿体分裂，出现淀粉粒。×13500

9. The cell developed chloroplast, with developed grana lamella locally having been enlarged. ×37500

10. The chloroplast of young-leaf cell being divided, thylakoid membrane formed. ×15000

11. The chloroplast of young-leaf cell being divided, the comparatively more developed thylakoid.

×15000

12. The division of chloroplast in the extending leaf cell, appearing one starch granule. ×13500