

麻疯树种子发育过程中脂类物质变化的显微和超微结构观察

刘焕芳, 廖景平*

(中国科学院华南植物园 中国科学院植物资源保护与持续利用重点实验室, 广州 510650)

摘要: 用石蜡切片、半薄切片和超薄切片方法研究了麻疯树种子发育过程中脂类物质的变化。结果表明: 脂类物质主要储存于胚乳当中, 当种子发育成熟时胚乳中迅速积累了大量的油脂; 种皮在发育过程中脂类物质含量较多, 成熟时外种皮硬化, 内种皮含有大量的油脂; 种子成熟时胚中含有少量的脂类物质。细胞内脂类物质含量比较多时, 内质网、线粒体、质体和高尔基体数量也会较多。种子完全成熟时进行采收加工是最为合适的。

关键词: 麻疯树; 种子发育; 脂类物质; 超微结构

中图分类号: Q944.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)06-0805-05

Micro-structure and ultra-structure of the lipids during the seed development in *Jatropha curcas*

LIU Huan-Fang, LIAO Jing-Ping*

(Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The micro-structure and ultra-structure of the lipids during the seed development in *Jatropha curcas* were studied by paraffin sectioning, semi-thin sectioning and ultra-thin sectioning. The results showed that the lipids were mainly stored in endosperm. The endosperm was rich in lipids at maturity. Seed coats were abundant in lipids during seed development. The outer coat was sclerified and the inner coat was rich in lipids at maturity. The embryo had a few lipids at maturity. Organelles including endoplasmic reticulum, mitochondria, plastids and dictyosome were abundant in the cell when lipids were rich. It was the most appropriate time to harvest and process when the seeds were fully matured.

Key words: *Jatropha curcas*; seed development; lipid; ultra-structure

麻疯树 (*Jatropha curcas*) 属于大戟科 (Euphorbiaceae) 麻疯树属 (*Jatropha*), 原产美洲热带地区, 我国广泛栽培于广东、广西、云南、四川、贵州、台湾、福建和海南等省区 (陈冀胜等, 1987; 丘华兴, 1996)。麻疯树是一种高产的生物能源植物, 种仁含油量高达 50%~70%, 是提炼环保清洁生物柴油的主要原料树种 (Kandpal, 1995; 余珠花等, 2005)。同时, 麻疯树种子还在生物病虫害防治、新药开发、

染料和肥料等方面具有广泛的应用价值, 有较强的市场开发潜力 (Openshaw, 2000; 林娟等, 2004)。迄今为止, 对于麻疯树种子的研究, 多集中在其种子油提取 (Shweta 等, 2004; 陈丽等, 2007; 李迅等, 2008)、化学成分和毒理药理研究 (Naengchomnong 等, 1970; Nath & Dwitta, 1991; Van 等, 1995; Fagbenro 等, 1998) 等方面, 而关于麻疯树种子的发育过程, 至今未见相关报告。本文对麻疯树种子发育

收稿日期: 2010-02-22 修回日期: 2010-06-10

基金项目: 中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目(200738); 中国科学院华南植物园博士科研启动项目(200716, PL200614); 国家自然科学基金面上项目(30870173)[Supported by the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences(200738); Doctor Start-up Research Fund of SCBG(200716, PL200614); the National Natural Science Foundation of China(30870173)]

作者简介: 刘焕芳(1979-), 女, 山东泰安人, 博士, 主要从事植物发育生物学研究, (E-mail) hfliu@scbg.ac.cn.

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: liaojp@scbg.ac.cn)

过程中脂类物质变化的显微和超微结构进行了研究,为生产上确定合理的采收时期,并为进一步调节脂类物质的产量和质量提供细胞学资料。

1 材料和方法

研究材料麻疯树(*Jatropha curcas*)采自中国科学院华南植物园麻疯树试验田。凭证标本(刘焕芳, 003)保存在中国科学院华南植物园标本馆(IBSC)。于2008年6~10月采集不同发育时期的果实,取出种子(样品采集情况见表1),每个时期取3粒种子。部分材料用FAA固定,系列酒精脱水,石蜡包埋,切片厚度8 μm ,番红—固绿染色;部分材料用2%戊二醛(pH7.0磷酸缓冲液配制)和1%锇酸双重固定,系列酒精脱水,环氧丙烷过渡,Epon812包埋,LKB-11800半薄切片器切片,半薄切片厚度2 μm ,甲苯胺蓝染色,Olympus-DP50显微镜观察并照相。然后用Leica Ultra S-2切片器钻石刀切片,厚80~90 μm ,2%(w/v)醋酸双氧铀染色60~90 min,6%(w/v)柠檬酸铅染色15min,TEM-1010电子显微镜90kV观察并拍照。

表1 麻疯树种子的样品采集情况
Table 1 Seed sampling of *Jatropha curcas*

样品编号 Sample code	果实长 Fruit length (mm)	果实宽 Fruit width (mm)	种子长 Seed length (mm)	种子宽 Seed width (mm)
F1	4.0	3.5	2.0	1.0
F2	6.0	4.5	2.5	1.5
F3	10.0	8.0	3.5	2.0
F4	16.0	14.0	5.0	3.0
F5	20.0	17.5	7.5	3.5
F6	21.5	18.0	8.5	4.0
F7	22.0	19.5	10.5	5.0
F8	23.6	20.0	11.5	6.5
F9	25.0	22.0	15.0	9.5
F10	27.5	26.0	17.0	10.5
F11	30.0	29.5	18.0	12.0

2 观察结果

发育成熟的麻疯树种子由胚、胚乳和种皮组成。种皮分为两层:外种皮坚硬,内种皮白色膜质。胚乳肥大,内含大量油脂。胚呈薄片状被包在胚乳的中央。种子发育过程中外种皮厚,内种皮薄,种皮是由胚珠的两层珠被随着胚和胚乳发育的同时一起发育而成的(图版I:1)。麻疯树种子油主要存在于胚乳

中,胚乳发育分为游离核期、细胞化期、细胞生长分化期和成熟期,其中细胞生长分化期和成熟期是脂类物质大量合成和积累的时期,因此本文观察集中在胚乳生长分化期和成熟期。

F1时期,种皮细胞中有脂类物质出现(图版I:2)。胚乳细胞中质体、内质网和核糖体数量较多,一些质体中开始积累脂类物质,有的内质网与质体和线粒体相连,可能有利于他们之间的物质运输(图版I:3)。胚乳细胞中乳汁管细胞数量较多,内含丰富的脂类物质(图版I:4)。

F2时期,种皮细胞含有大量的线粒体和脂类质体(图版I:5),其中内种皮中含有较多内质网和核糖体,且很多质体正在积累脂类物质(图版I:6),靠近内种皮的胚乳细胞含线粒体和脂类质体数量较多(图版I:7),其他胚乳薄壁细胞中细胞器和质体含量较少。

F3时期,外种皮和胚乳薄壁细胞中,细胞器和脂类物质含量均变化不大,而内种皮细胞内质网丰富、核糖体很多,线粒体和质体数量增加(图版I:8)。

F4时期,外种皮细胞中乳汁管数量明显增多,种脊处乳汁管和维管束非常多(图版I:9),乳汁管细胞中脂类质体和内质网数量丰富(图版I:10)。内种皮细胞中脂类质体、内质网和线粒体数量丰富(图版I:11)。在胚乳薄壁细胞,靠近细胞核的位置也出现较多的脂类质体和线粒体(图版I:12)。

F5时期,外种皮变薄,细胞器和脂类物质含量明显减少,胚乳细胞体积明显增大,细胞器和脂类物质都相对较少(图版II:13)。

F6时期,内种皮细胞中线粒体和脂类质体非常丰富(图版II:14),胚乳细胞中细胞壁附近线粒体和脂类质体数量有所增加(图版II:15)。F7时期与F6时期相似。

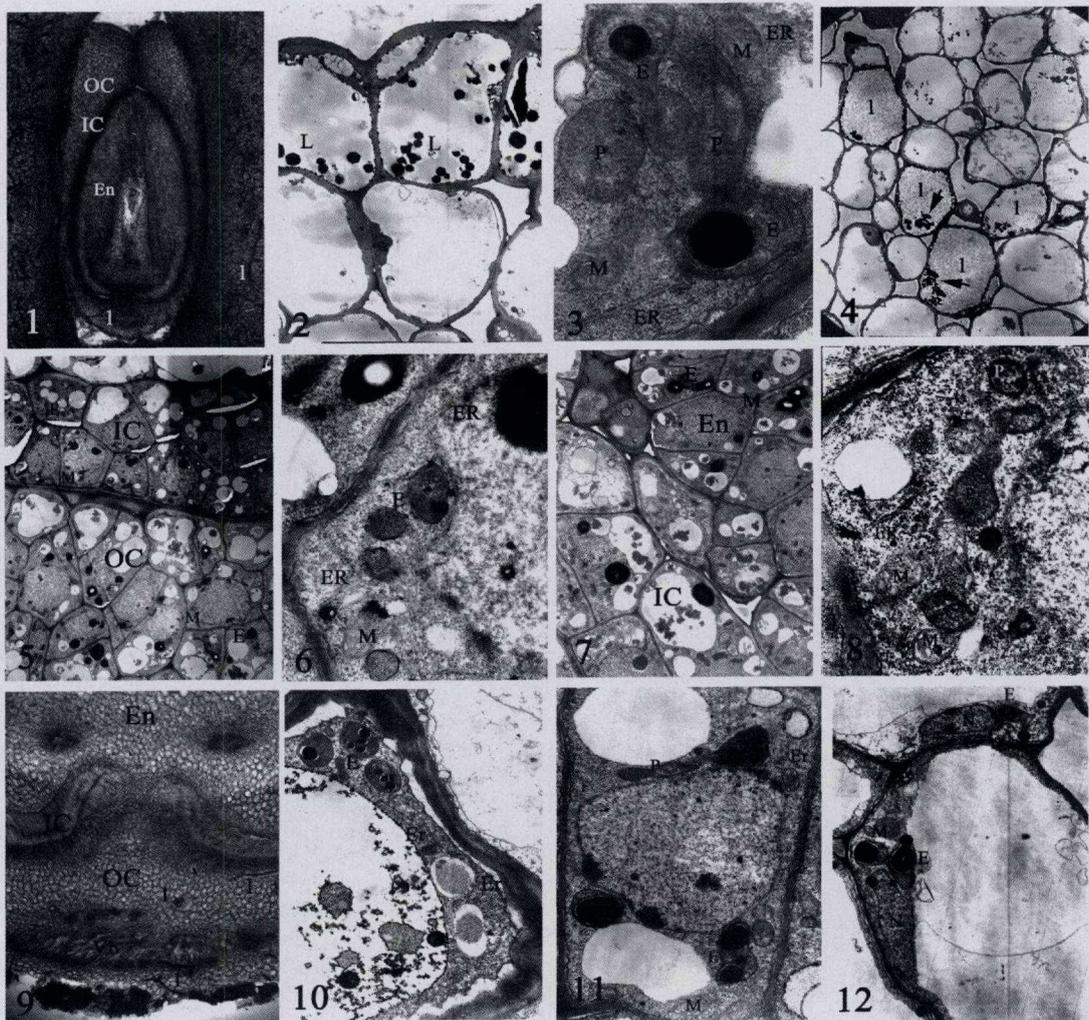
F8时期,外种皮细胞器和脂类物质含量较少(图版II:16),内种皮细胞中线粒体和脂类质体非常丰富,并有一定数量的内质网和核糖体出现(图版II:17),胚乳薄壁细胞体积明显增大,在细胞壁周围有一定数量的线粒体和脂类质体(图版II:18)。F9时期与F8时期相似。

F10时期,外种皮开始硬化,内种皮细胞出现大量的细胞器:内质网、线粒体和高尔基体,脂类质体体积明显增大、数量明显增多(图版II:19)。胚乳细胞体积很大,沿着细胞壁分布着一些细胞器,细胞核

周围分布着一些线粒体和质体(图版 II:20)。

F11 时期,种子发育成熟,外种皮完全硬化。内种皮和胚乳细胞均含有大量的油脂(图版 II:21,

22)。此时胚也发育成熟,胚轴和子叶中也出现少量脂类物质,且有乳汁管分布,内含脂类物质(图版 II:23,24)。



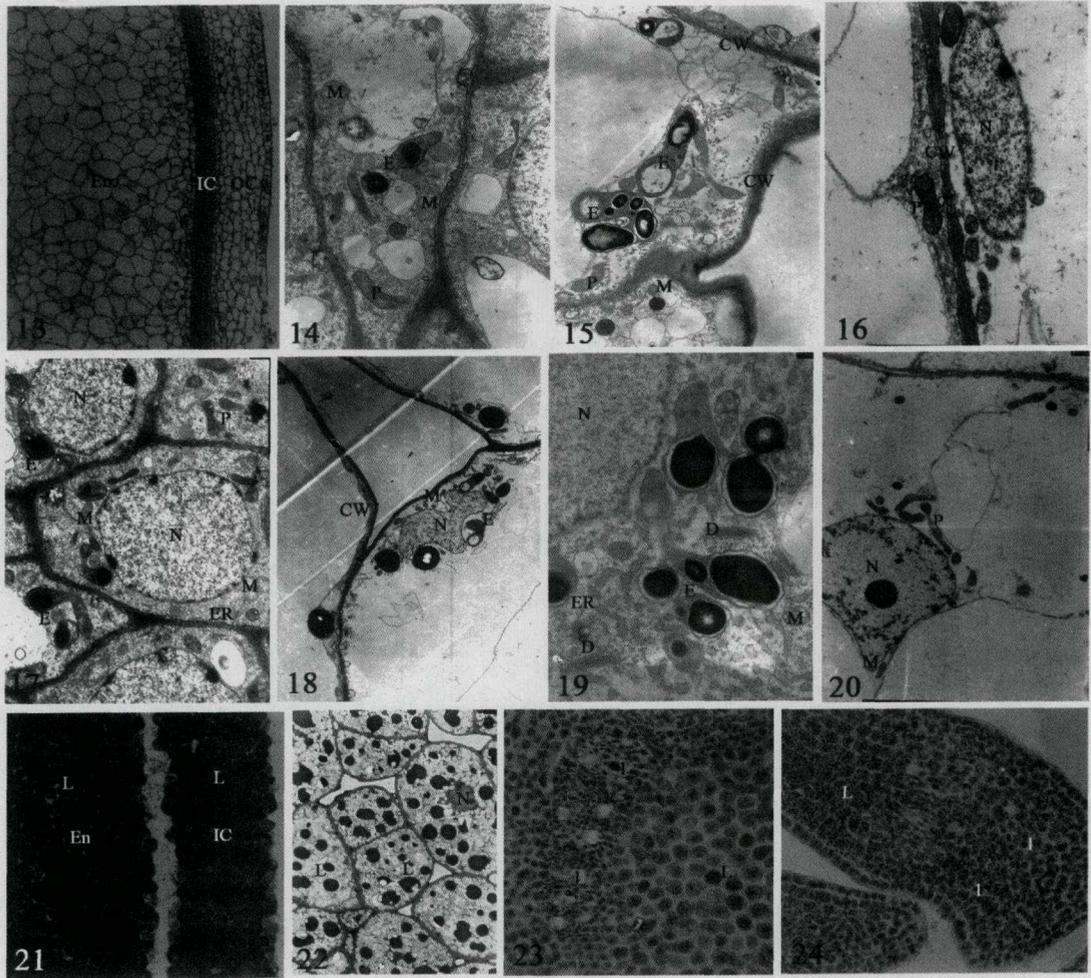
图版 I 1. 发育中的种子纵切面 $\times 200$; 2. 外种皮 $\times 2000$; 3. 胚乳细胞 $\times 30K$; 4. 胚乳细胞含乳汁管(黑色箭头示脂滴) $\times 800$; 5. 内外种皮 $\times 2500$; 6. 内种皮 $\times 25K$; 7. 内种皮和胚乳 $\times 3000$; 8. 内种皮 $\times 25K$; 9. 外种皮 $\times 100$; 10. 外种皮中的乳汁管 $\times 8000$; 11. 内种皮 $\times 12K$; 12. 胚乳 $\times 5000$. CW:细胞壁; D:高尔基体; E:油质体; En:胚乳; ER:内质网; IC:内种皮; l:乳汁管; L:脂滴; M:线粒体; N:细胞核; OC:外种皮; P:质体; Vb:维管束

Plate I 1. Longitudinal section of seed in developing; 2. Outer coat; 3. Endosperm; 4. Laticifers in endosperm(Black arrows indicate lipids); 5. Inner and outer coats; 6. Inner coat; 7. Inner coat and endosperm; 8. Inner coat; 9. Outer coat; 10. Laticifer in outer coat; 11. Inner coat; 12. Endosperm. CW: Cell wall; D: Dictyosome; E: Elaioplast; En: Endosperm; ER: Endoplasmic reticulum; IC: Inner coat; l: Laticifer; L: Lipid; M: Mitochondrion; N: Nucleus; OC: Outer coat; P: Plastids; Vb: Vascular bundle.

3 讨论

成熟的麻疯树种子腹面中央有一长形种脊,是倒生胚珠的珠柄和一部分外珠被愈合,在成熟种皮上留下的痕迹,内含维管束。作者观察到在种子发育过程中,此处的外种皮细胞内乳汁管和维管束数

量一直非常多。乳汁管是一种特殊的细胞或一列含有乳汁的细胞,内含大量的脂类物质,乳汁具有多种药用功能(Fahn, 1979)。刘焕芳等(2006)研究发现,麻疯树整个植株的各个部位均有乳汁管分布,乳汁管通常与韧皮部相结合,沿维管束方向分布,且大量散生于皮层组织中,在麻疯树果实的果皮和中轴中乳汁管含量非常丰富。麻疯树种子通过种柄与中



图版 II 13. 胚乳细胞×400; 14. 内种皮×10K; 15. 胚乳细胞×6000; 16. 外种皮×12K; 17. 内种皮×8000; 18. 胚乳细胞×3000; 19. 内种皮×12K; 20. 胚乳细胞×4000; 21. 内种皮和胚乳×400; 22. 胚乳细胞×1200; 23. 胚轴×400; 24. 子叶×400.

Plate II 13. Endosperm; 14. Inner coat; 15. Endosperm; 16. Outer coat; 17. Inner coat; 18. Endosperm; 19. Inner coat; 20. Endosperm; 21. Inner coat and endosperm; 22. Endosperm; 23. Hypocotyll; 24. Cotyledon.

轴胎座连接,且种子中也有少量乳汁管分布,故推测种子中脂类物质的积累可能与乳汁管的运输有关。

麻疯树种子发育过程中,外种皮细胞内细胞器和脂类物质含量一直比较多,直到种子快发育成熟时,发生纤维化;内种皮细胞中细胞器和脂类物质含量则一直非常丰富。本研究认为麻疯树种皮是贮存营养物质的场所,这与蚕豆(*Vicia faba*)的种皮一样(陆时万,2005)。麻疯树种子胚乳发育过程中靠近内种皮的胚乳薄壁细胞含细胞器和脂类物质比内部的胚乳细胞要多,这可能与胚乳的发育方式有关,即胚乳细胞壁的形成是从胚囊的珠孔端和周缘开始向合点端及中央逐渐形成的,胚乳组织的外层细胞能从母体吸收营养供给内部的胚乳细胞及胚的发育。胡适宜等(1983,2005)研究发现,豇豆(*V.*

sinensis)胚胎发育过程中,胚乳组织的外层细胞具有传递细胞的特点。本研究的结果也认为麻疯树的胚乳细胞具有此功能。

研究发现,细胞内脂类物质含量比较多时,线粒体、内质网和高尔基体数量也会较多,初步推测内质网和线粒体参与脂类的合成,高尔基体与脂类物质的转运有关。有的内质网与质体和线粒体相连,可能有利于它们之间的物质运输,这种现象在大葱(*Brassica campestris*)(习湘媛,2000)和麻疯树(刘焕芳等,2007)花粉发育过程中也出现过。

当麻疯树种子发育完全成熟时,胚乳细胞内会迅速积累大量的脂类物质,这时期对麻疯树果实进行采收加工才是最合适的。因此,有利于麻疯树种子的生长发育和胚乳脂类物质积累的各项管理措施

应在果实成熟前重点加强,才能有效提高种子的千粒重及油脂的量和质。陈丽等(2007)利用 GC-MS 对不同采收时期、不同储存年份麻疯树种子所提取的种子油的脂肪酸成分进行分析也认为新采的成熟果实较为适合作生物柴油的原料。

致谢 中国科学院华南植物园吴国江研究员为本文的研究提供实验材料,特此致谢!

参考文献:

- 丘华兴. 1996. 中国植物志(第 44 卷第 2 分册)[M]. 北京:北京科学出版社
- 陈冀胜,郑硕. 1987. 中国有毒植物[M]. 北京:北京科学出版社:258
- 陆时万. 2005. 植物学(上)[M]. 北京:高等教育出版社
- 胡适宜. 2005. 被子植物生殖生物学[M]. 北京:高等教育出版社
- Chen L(陈丽), Wu J(吴军), Zeng N(曾妮), *et al.* 2007. GC-MS analysis of fatty acids of seed oils from *Jatropha curcas* at ripening and storage stages(用 GC-MS 分析不同采收和贮存时期的麻疯树种子油的脂肪酸)[J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, **15**(5):443-446
- Fagbenro AF, Oyibo WA, Anuforo BC. 1998. Disinfectant/antiparasitic activities of *Jatropha curcas*[J]. *East Afr Med J*, **75**(9):508-511
- Fahn A. 1979. Secretory Tissues in Plants[M]. London: Academic Press, 223-243
- Hu SY(胡适宜), Zhu W(朱激), Xu SX(徐是雄). 1983. Transfer cells in suspensor and endosperm during early embryogeny of *Vigna sinensis*(豇豆胚胎发育早期的胚柄及胚乳中的传递细胞)[J]. *J Integr Plant Biol(植物学报)*, **25**:1-7
- Kandpal J B, Madan M I RA. 1995. *Jatropha curcas*: a renewable source of energy for meeting future energy needs[J]. *Renew Energ*, **6**(2):159-160
- Li X(李迅), Li ZL(李治林), He XY(何晓云), *et al.* 2008. Study on producing biodiesel fuel from *Jatropha curcas* oil sources catalyzed by whole cell biocatalyst(全细胞生物催化麻疯树油制备生物柴油的研究). *Modern Chemical Industry(现代化工)*, **28**(9):57-61
- Lin J(林娟), Zhou XW(周选围), Tang KX(唐克轩), *et al.* 2004. A survey of the studies on the resources of *Jatropha curcas*(麻疯树植物资源研究概况)[J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, **12**(3):285-290
- Liu HF(刘焕芳), Liao JP(廖景平), Tang YJ(唐源江). 2006. Anatomy of laticifers in *Jatropha curcas*(麻疯树乳汁管的解剖学研究)[J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, **14**(4):294-300
- Liu HF(刘焕芳), Liao JP(廖景平), Wu GJ(吴国江). 2007. Ultrastructure of microspore development in *Jatropha curcas*(麻疯树小孢子发育的超微结构研究)[J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, **15**(2):107-114
- Naengchomng W, Thebtaramonth Y, Wiriyachitra P, *et al.* 1970. Isolation and structure determination of two novel lathyrane from *Jatropha curcas*[J]. *Indian J Chem*, **8**:1 047
- Nath LK, Dutta SK. 1991. Extraction and purification of curcain, a protease from the latex of *Jatropha curcas* Linn [J]. *J Pharm Pharmacol*, **43**:111-114
- Openshaw K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant unfulfilled promise[J]. *Biomass Bioenergy*, **19**:1-15
- She ZH(余珠花), Liu DC(刘大川), Liu JB(刘金波), *et al.* 2005. Physicochemical properties and fatty acid composition of *Jatropha curcas* seed oil(麻疯树籽油理化特性和脂肪酸组成分析)[J]. *China Oils Fats(中国油脂)*, **30**(5):30-31
- Shweta Shah, Aparna Sharma, MN. Gupta. 2004. Extraction of oil from *Jatropha curcas* seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning[J]. *Industrial Crops and Products*, **20**(3):275-279
- Van A, Horsten S, Kettenes J, *et al.* 1995. Curcacycline A-a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* Linn [J]. *FEBS Lettes*, **358**(3):215-218
- Xi XY(习湘媛). 2000. Observations on ultrastructure of pollen development from microsporocyte to early two-celled pollen in Welsh Onion(*Allium Fistulosum*)(大葱小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构观察)[J]. *Acta Bot Yunnan(云南植物研究)*, **22**(2):161-165