

莲子叶肉细胞液泡的类型、来源与发育*

唐佩华 赵京 苏秀珍 姜华

(中国科学院植物研究所,北京 100044)

姜在阶

(北京师范大学生物系,100875)

提要

莲 (*Nelumbo nucifera* Gaertn) 子叶发育期间叶肉细胞液泡系变化巨大。发育阶段 I 时, 液泡系为具一些单个小液泡的分生细胞型。1—2 天后, 进入发育阶段 II, 这时中央大液泡形成, 液泡系转变为分化细胞型。细胞质和液泡中出现大量小液泡。新液泡的来源和发育是多样的: 可由(1)核外膜起泡、断落、扩大形成;(2)高尔基体端部膨大、断落、扩大形成;(3)管状粗糙型内质网任意部位出芽或端部膨大, 脱掉核糖体, 断落、变形形成;(4)质膜内陷, 吞并部分细胞质或营养液形成;(5)中央液泡被原生质丝分割等方式形成。在发育阶段 II 和 III 期间新生液泡大分小合, 形成许多平均直径为 0.4—1.2 μm, 形态各异的液泡群。它们各自发育成溶酶体、圆球体、微体、壁旁体、自体吞噬泡和胞饮液泡等。在后继发育中, 一些液泡转变为蛋白体和脂肪体。本章论证了莲子叶的液泡系具有同双子叶植物子叶液泡系相似的结构与功能。

关键词 液泡类型, 来源与发育, 莲, 子叶

双子叶植物种子的蛋白质和油脂等贮藏物质大部分都存在子叶液泡中, 近年来有不少学者对子叶的发育及液泡系的变化作过研究。Bain 等^[9]和 Briarty 等^[11]首先注意到子叶发育过程中叶肉细胞液泡的体积变化巨大, 并建立了测定液泡体积的简易方法。Harris 等^[13]和 Craig 等^[12]完善了利用切片或超薄切片对细胞和液泡体积进行定量测量的标准和统计分析的方法, 证明了液泡大小与数量的变化和子叶中贮藏蛋白的积累有关。Bergfeld 等^[10]报道了子叶液泡系的变化与细胞内其它有明显发育阶段特征的变化相伴随的现象。Adler 等^[5]在研究豌豆子叶蛋白体的发育时, 发现内质网衍生的含蛋白质的囊泡具液泡形态, 可能参与了使蛋白体体积趋向一致的均一化机制。莲有一对硕大的子叶, 但对其发育的研究几乎为空白^[1]。作者已完成的研究^[6]表明, 莲子叶的发育与豆科植物相似。在本工作中用电镜和细胞化学方法, 研究莲子叶肉细胞液泡系的发育动态, 比较其与豆科植物的异同。参照 Craig 等^[12]的方法, 我们测定并统计分析了不同发育阶段叶肉细胞的液泡体积, 结果显示: 莲子叶肉细胞液泡系在发育过程中体积变化很大; 观察到一批

* 本研究为国家自然科学基金资助项目。赵瑞祺同志帮助放大照片, 特此致谢。

1989 年 6 月 20 日收到。

来源不同，形态各异的液泡类型和由其中一部分后续发育成蛋白体和脂肪体；证明莲的子叶叶肉细胞液泡系与豆科植物的发育过程^[8-10,12,13]很相似，从而为莲的双子叶植物属性提供了又一依据。

材料与方法

(一) 实验材料与子叶生长日龄的计算

红花子莲分别采自北京紫竹院公园莲塘和中国科学院武汉植物研究所试验地。在花朵盛开的当天(即大部分子房被传粉、受精之日)^[6]，挂牌计算子叶生长日龄。

(二) 材料的固定和观测

1. 光学显微镜观察材料：FAA 固定，常规石蜡包埋，切片厚 $5\mu\text{m}$ ，蜡带直接用苯胺兰 O(pH4.5) 染色^[7]，供一般细胞学观察。苯胺兰 (pH9.0) 检查蛋白质，PAS 反应检查淀粉、多糖，苏丹 IV 染色检查油脂。

2. 电子显微镜观察材料：戊二醛-锇酸双固定，酒精系列脱水，Spurr 包埋。LKB-4800-IV 型超薄切片机切片，厚度 $600-700\text{\AA}$ ，LKB 自动染色仪中用醋酸双氧铀和柠檬铅染色，JEM-CX-100 电子显微镜观察并照相，工作电压 $50-80\text{kV}$ 。

3. 细胞、液泡平均直径测量 按 Craig 等^[12] 法取细胞和液泡正交的两个最大直径(图版 I:2,3)用游标卡尺测量后相加除 2，作为被测样品的实测平均直径；除以电子放大倍数或光学放大倍数，即为电镜或光学照片上被测样品的平均直径。据此按球体体积公式，可推算出细胞、液泡的可比体积。每组样品的统计量为 20—50 个细胞。平均值和标准差用 Sharp EL-5100 型计算器中的固定程序算出。

观察结果

(一) 液泡系的发育

用光学和电子显微镜对莲子叶发育过程中叶肉细胞液泡系进行的观察表明，在发育阶段 I 时，液泡系由随机分布在细胞质中的多个体积甚小的液泡(图版 I:1, V)构成，形态与植物根尖分生组织细胞中的液泡系^[2,7]相似。细胞中液泡总体积的平均值只占细胞体积的 0.5% 左右(表 1)。1—2 天后，细胞进入发育阶段 II，中央液泡开始形成。它通过内吞(Endocytosis)方式并入周围的小液泡(图版 I: 2, CV)扩大自身，液泡系亦由分生细胞型转化为分化细胞型。当细胞中液泡的总体积上升到占细胞体积的 40% 左右时，称为阶段 II 中期；到占 60% 左右，称为阶段 II 晚期(表 2)。此时，有的细胞中央液泡的直径几乎已相当于细胞直径(图版 I: 3, CV)。上述结果与汪德耀^[2]在植物幼根生长及 Briarty 等^[10]在豌豆子叶细胞发育过程中观察到的中央液泡形成的情况基本相似。不同的是根细胞中的中央液泡形成后不再有形态上的变化，而子叶细胞的中央液泡还要解体再发育。在莲子叶叶肉细胞的较大的液泡中常见到许多直径为 $0.2-0.5\mu\text{m}$ 的小液泡(图版 I: 3, V) 和长短不一，粗细各异的原生质丝(图版 I: 3,4, CP)。后者把中央液泡分割成

表 1 不同发育阶段细胞体积与液泡体积比较

Tab. 1 Comparision of cell volume (VC) and vacuole volume (VV) among cells of different developmental stages (DS)

发育阶段 DS	测定细胞数 NO. of cells measured	细胞平均体积 VC(μm^3) Mean \pm S. D.	液泡系体积/细胞 VV/cell(μm^3) Mean \pm S. D.	液泡占细胞体积比 VV:VC(%) Mean \pm S. D.
I	20	231.9 \pm 122.2	1.14 \pm 1.01	0.48 \pm 0.29
II	43	3 544.5 \pm 3 693.7	1 739.3 \pm 2 135.4	43.93 \pm 25.31
III	35	28 165.5 \pm 12 656.2	8 051.5 \pm 5 027.3	31.01 \pm 18.46
不同发育阶段比 Inter-stage comparision		倍数 Times	倍数 Times	倍数 Times
II:I		15.28	1 525.69	91.52
III:I		121.46	7 062.72	64.60
III:II		7.95	4.63	0.71

表 2 发育阶段 II 各期细胞体积和液泡系体积的变化

Tab. 2 Changes in cell volume (VC) and vacuole volume (VV)
during developmental stage II

发育阶段 Devel. stage	测定细胞数 No. of cells measured	细胞平均体积 VC(μm^3) Mean \pm S. D.	液泡系体积/细胞 VV/cell(μm^3) Mean \pm S. D.	液泡占细胞体积比 VV:VC(%) Mean \pm S. D.
II _E	21	761.09 \pm 386.73	139.43 \pm 183.73	16.20 \pm 12.69
II _M	23	4 934.08 \pm 5 444.69	1 931.54 \pm 3 180.71	41.18 \pm 19.80
II _L	29	4 205.11 \pm 2 323.46	2 533.68 \pm 1 272.22	61.84 \pm 10.60

一些大小和形状不同的液泡群(图版 I: 4)。作者在莲上的观察结果与 Neumann 等^[16]在豌豆上观察的结果一致。后者认为中央液泡的再分, 在豆科植物中是蛋白体形成的一个重要步骤。我们不但观察到莲子叶肉细胞和豌豆子叶肉细胞一样, 都以中央液泡的解体为发育阶段 II 结束和发育阶段 III 开始的形态学标志; 而且在阶段 III 的发育上, 两者表现出同样典型的双子叶植物贮藏细胞型液泡系的发育特征。即一方面是中央液泡一再被切割分小, 另一方面是不同来源的小液泡不断产生变大。

莲子叶肉细胞中新液泡的来源是多种多样的。它们可由核外膜起泡、膨大、脱落形成(图版 II: 11, NM \rightarrow NSV); 由高尔基体端部膨大、断落形成(图版 II: 12, D \rightarrow GV); 由管状粗糙型内质网任意部位出芽或端部膨大, 脱掉核糖体, 断落, 变形形成(图版 II: 14, TER、ERV、PR); 由质膜内陷、吞入部分细胞质或营养液形成(图版 II: 13, PB) 和由中央液泡被原生质丝分割等方式形成(图版 I: 4, AV)。新液泡形成后又可以内吞(图版 I: 5 AV、MVB) 或相邻液泡界面消融(图版 I: 5, MB) 或两种方式同时进行等途径, 发育成为体积较大的液泡(图版 I: 5, 6)。这阶段发育的另一特征是贮藏物质(淀粉、脂肪、蛋白质等)大量合成和积累。蛋白质沉积在液泡膜上或进入液泡内(图版 II: 15, P), 当液泡内积累了一定量的蛋白时, 液泡就改称为蛋白体^[9, 10]; 另一些液泡被脂肪充填而发育成脂肪体(图版 I: 6, LB)。到子叶的发育最后阶段(阶段 IV), 即从受精后的 25 天到 30 天, 在短短的 5 天中, 子叶体积缩小到 24 天时的 3/4—1/2。由于脱水收缩, 细胞质高度浓缩和贮藏物质的大

量积累，在细胞质中很难再看到液泡^[6]。当种子吸水膨胀，开始萌发时，液泡又大量出现。

(二) 液泡系体积在发育过程中的变化

表 1 列举的是参照 Craig 等^[12] 的方法从 3 个以上子叶相同部位切片中获得的不同发育阶段子叶叶肉细胞及液泡系体积的数据。

由表 1 可看到从阶段 I 到阶段 II，液泡系总体积增长速度百倍于细胞体积；数据有力地支持这时期(2—3 天)莲子叶能快速成倍地伸长、增宽并加厚系主要由于液泡系扩张造成的观点^[6]。从阶段 II 到阶段 III，细胞体积增长速度反超过液泡总体积 70%，表明中央液泡解体后，发育方向转向内含物的合成与积累，使细胞的液化程度下降。但从绝对值看，阶段 III 较阶段 II 液泡系体积仍有 3.6 倍的增加。至于阶段 II 时细胞体积与液泡系体积的标准差均大于其平均值，则说明这阶段样品间的差异大，发育上不同步。表 2 为一个 7 日龄子叶不同部位阶段 II 早、II 中和 II 晚各期细胞、液泡体积的比较。

从表 2 看出，II 中期的细胞体积反比当时处于 II 晚期的细胞体积还大，说明同一子叶内较晚发生的细胞体积较大。II 早和 II 中期液泡系体积的标准差均大于平均值，说明即使在同一子叶内，不同部位细胞液泡系的发育也不同步。上述结果与作者在莲子叶发育过程一文^[6]中的结果一致。

(三) 新液泡的类型与发育

莲子叶叶肉细胞在发育过程中产生大量来源不同，形态各异的新液泡，分述如下：

1. 在发育阶段 III 的制片上常见到一些高尔基体扁平囊泡末端被中等电子密度蛋白质充填膨大(图版 II: 12, D)，随后脱落，形成直径 0.1—0.5 μm 的小泡游离于细胞质中，这就是文献中所谓的高尔基液泡 (Golgi vacuole, GV)^[4,7] (图版 II: 12, GV)。它们是莲子叶叶肉细胞液泡系中的主要成员，在贮藏蛋白的积累中参与将蛋白质从合成地点(内质网)转移到组装地点(液泡)的过程，与一些研究豆科植物种子中蛋白体形成的论文^[8,16]提到的“从高尔基体上掉下来的含蛋白囊泡进入液泡并参与蛋白体组建”的现象相符合。

2. 对发育阶段 II 晚期和阶段 III 早期的材料进行光学显微镜检时，很容易看到叶肉细胞中有不少折射率很强，可被苏丹 III 或 IV 染成红色的成簇分布的小点，它们是脂肪滴或其前体。用电镜观察相同发育阶段的材料时，看到许多管状内质网的末端被电子空白的脂类充填膨大(图版 I: 5, TER；图版 II: 14, TER)，或被中等电子密度的蛋白质充填膨大(图版 II: 10, TER)，它们脱落在细胞质中，形成簇状分布的直径为 1—10 μm 的小液泡群(图版 II: 10, ERV 和图版 II: 14)。参照文献[4,7]介绍的分类方法，那些直径 5—10 μm，内部均匀透明的是脂肪滴或称脂肪体 (Lipid body, 图版 I: 6, LB)；直径 1—5 μm，外形圆，内部具颗粒状电子致密基质的称为前圆球体 (Prespherosome, 图版 I: 6, PSS)；直径为 5—10 μm，外形圆，内部仅有少量颗粒状基质的称为圆球体 (Spherosome, 图版 I: 6, SS)。在莲子叶细胞中还普遍存在形态与圆球体相似，外形呈椭圆、卵圆或哑铃形，直径为 2—5 μm 的小泡，被称为微体 (Microbody, 图版 I: 6, MB)。两者区别在于微体可与溶酶体结合形成次级溶酶体；而圆球体不与溶酶体合并。

3. 中央液泡 (Centre vacuole, CV)，是双子叶植物子叶叶肉细胞中体积变化最大，存

在时间最短的结构。在发育阶段 II 的 2—3 天内, 莲子叶的中央液泡经历了从发生、长大到解体的全部过程(图版 I:2—4)。中央液泡解体后衍生出自体吞噬泡(Autophagic vacuole, AV), 内含物为一小块细胞质(图版 I: 4, AV); 和胞饮囊泡(Pinocytic vacuole, PV), 内含物为透明的营养液(图版 I: 4, PV)。

4. 在莲子叶叶肉细胞内存在许多直径从 250 Å 到 10 μm 大小不等的小泡。其内含物为不同电子密度的均匀物质, 可来源于内质网或高尔基体, 被称为溶酶体(Lysosome, LS)。依底物的无与有, 分别称为初级溶酶体(Primary lysosome, PLS)和次级溶酶体(Secondary lysosome, SLS)。有些文献又把后者称为自体吞噬泡(AV)^[3]或自生性溶酶体(Auto-lysosome)^[7]。三者同物异名, 前两名使用得更多。为在同一图片上便于区别, 我们同时采用了 SLS 与 AV 两名。莲子叶中的溶酶体常与细胞质块(图版 I: 4, AV)或质体(图版 I: 7, PT)或线粒体(图版 I: 8, M 和 9, M)或液泡(图版 I: 8, V)结合在一起形成次级溶酶体。刚结合时, 溶酶体与底物之间的界膜尚存在(图版 I: 8, 9 黑箭头); 随后, 结合处的界膜局部沟通(图版 I: 7, AV)或全部消融(图版 I: 8, SLS), 两个结合的部分就合并为一个整体了。溶酶体中的分解酶类能分解底物中各种生物高分子物质, 消化后的可溶性分子又能通过溶酶体膜释放到细胞质中(图版 II: 10, AV, 黑单箭头), 供再利用。次级溶酶体有时全部或局部具双层界膜(图版 II: 10, 黑双箭头), 其外层为溶酶体膜, 内层则为被吞噬的细胞器残存的膜。在发育阶段 III 早期—中期, 当细胞质中新液泡大量出现时(图版 I: 5), 在莲中也看到了类似大鼠睾丸间质细胞进行自体吞噬活动时的多泡体结构(Multivesicular body, MVB,^[3] 图版 I: 5, MVB)。一个较大的液泡可同时以内吞方式并入多个小液泡, 消化改造, 扩大自身, 表明动植物细胞的重建方式有相似之处。由于底物的质或量异常, 溶酶体常有消化不完全或不能消化的物质残留在次级溶酶体内形成形形色色的残余体(Residual body), 在莲子叶发育过程中类似情况难免存在; 但仅凭形态学手段尚无法区分滞留在细胞内的残余体与未完成消化过程的次级溶酶体。只在前者带着残余废物被排出细胞外后才可确认。

5. 在代谢活跃的发育阶段 II 和 III 时期, 在莲子叶叶肉细胞壁周围, 到处可见到由质膜内陷或通过质膜外突, 将细胞质中的小泡(有或无内含物)送到质膜与细胞壁之间的腔中, 形成管状、泡状的突起物, 称为壁旁体(Paramural body, PB)的结构(图版 I: 2, PB 和图版 II: 10, 13, PB)。图版 II: 13 展示了不同大小的壁旁体。

讨 论

(一) 关于莲子叶叶肉细胞液泡系的结构与功能

我们的研究表明莲子叶叶肉细胞的液泡系的发育过程、主要液泡类型(即结构)与已研究过的一些双子叶植物^[2], 特别是豆科植物^[8—10, 12, 13, 16]相似, 从而为证明莲是双子叶植物又提供了科学依据。双子叶植物子叶的液泡系是参与细胞新陈代谢, 有积极功能的器官^[4, 7]。现在我们来分析一下莲子叶叶肉细胞液泡系的主要功能: (1)积极参与生长节律的调节。在发育阶段 II, 通过渗透调节, 液泡系吸水膨大, 形成中央液泡。整个液泡系以百倍于细胞的增长速度, 于 1—2 天内, 把其与细胞的体积比由 0.5% 猛升到 90% 以上, 促

使细胞体积在 2 天内增加 15 倍, 子叶长大 2—4 倍。在发育阶段 IV, 又由于液泡系失水收缩, 几天内使子叶体积缩小为原大的 $3/4$ — $1/2$ 。(2) 参与细胞贮藏物质的积累与组装。莲子叶和所有双子叶植物一样, 是种子的贮藏器官, 液泡是叶肉细胞各种物质的贮藏场所。随着种子的发育成熟, 蛋白质和脂肪等都在液泡内积聚或组装, 一些液泡逐渐发育成蛋白体和脂肪滴。(3) 参与细胞器和其它结构的自然更替。次级溶酶体通过自噬作用, 消化了被吞噬的老细胞器或多余的细胞质, 使之分解成可溶性分子释放到细胞质中供再利用; 还将残留废物通过残余体排出细胞外, 从而实现了细胞的改建与重组。由此得出结论, 莲子叶叶肉细胞的液泡系具有其它双子叶植物子叶液泡系相同的功能。

(二) 关于液泡系体积研究方法学问题

由于液泡的形态多变, 并非典型球体, 已有的测定方法把它的体积按球体推算不能精确代表实际体积, 是半定量性质的。其次, 切片很薄, 能切到样品的最大截面的机率很低, 所测得数据比实际小得多, 加上发育不同步就更难准确了。因此, 取样要求尽可能一致。在数据的统计处理上, 最好多种处理, 否则容易得出错误结论。如若仅根据平均直径(表 3)的差异检验(七值), 虽明看到阶段 I 与阶段 II 中后期的平均值约差一倍, 从光学或电子显微镜的观察也看到差异明显; 但由于标准差过大, 统计结果差异的显著性程度却不明显(表 3)。

表 3 不同发育阶段液泡平均直径*比较

Tab. 3 The average diameter(AD) of vacuoles at different developmental stages (DS)

发育阶段 DS	测定液泡数 No. of vacuoles measured	测定细胞数 No. of cells measured	平均直径(μm) AD Mean \pm S. D.	与前阶段平均直径 差异检验 Com- parison with AD of preceding stage (t)	差异的显著性 Significance of difference
I	79	25	0.520 \pm 0.287		不显著 nonsignificant
II _E	76	23	0.433 \pm 0.273	0.220	不显著 nonsignificant
II _M	62	27	0.927 \pm 0.652	0.699	不显著 nonsignificant
II _L	98	31	0.907 \pm 0.682	0.021	无差异 no difference
III	75	28	0.907 \pm 0.854	0	

* 中央液泡除外。Note: Except CV.

如若用各自平均直径的大小与分布频率作图(图 1), 那么连发育阶段 II 中、II 晚和 III 之间, 即平均直径近似, 标准差很大的样品间, 在发育趋势上的差异也能反映出来。从图 1 看出, 在统计样品总数近似(60—100 个)的条件下, 以占总数 5% 以上个体群为点统计分布频率时, II 中有 6 个点分布在 0.1—3.0 μm 区; II 晚有 3 个点在 0.4—1.5 μm ; III 有 3 个点在 0.4—1.1 μm 。随着发育进程, 液泡的大小越来越集中在平均值附近的趋势是明显的。换句话说, 从 II 中到 III 液泡体积的大小有均一化趋势。由于液泡和蛋白体有发育上的连续性, 因此我们的这一结果在一定程度上支持了 Adler 等^[3]关于豌豆子叶蛋白体的发育中有均一化机制的假说。本文所介绍的方法对测定一个液泡的体积来说虽不如现代

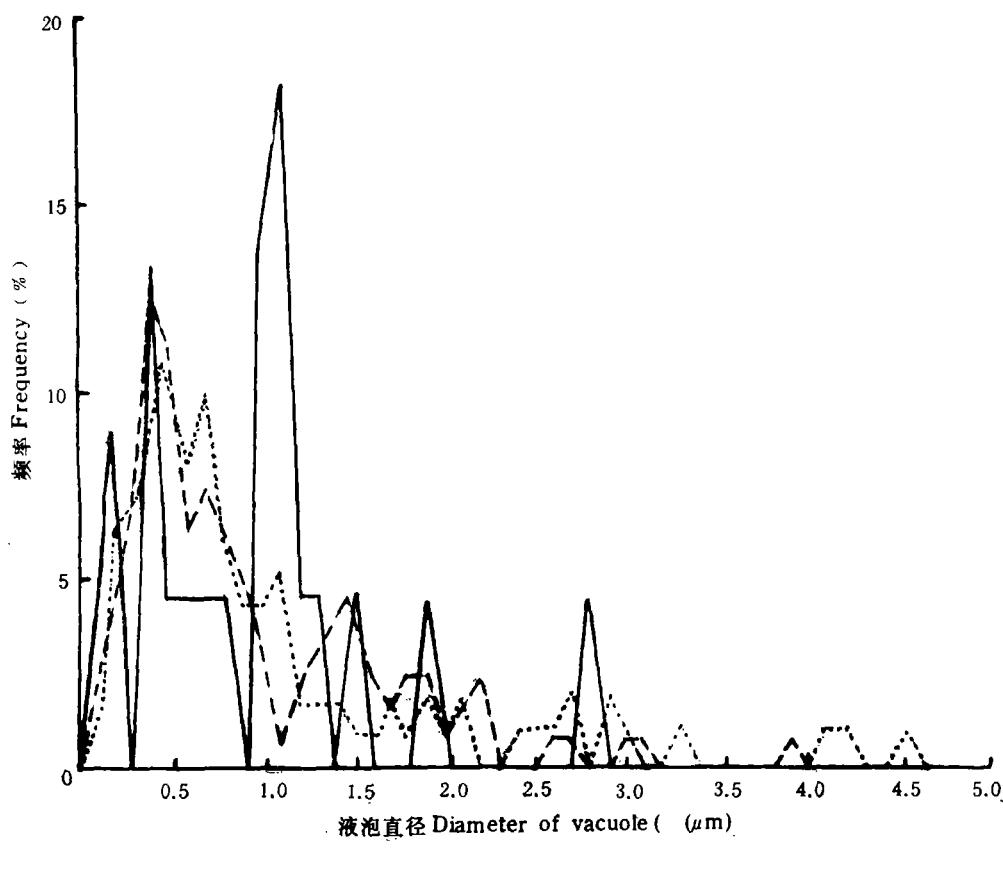


图 1 不同发育阶段细胞液泡直径分布频率

Fig. 1 Frequency of distribution of cell vacuoles diameters at different developmental stages

——II_M⁺ - - - II_L⁻ III

先进的电子计算机的三维结构重组技术^[1],但用它来研究液泡系发育动态和趋势,就其简便易行和置信程度来看还是值得推广的。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院武汉植物研究所,1988。中国莲。46—61页。科学出版社。
- [2] 汪德耀,1951。植物细胞的液泡系。科学进展,2: 72—93(厦门大学)。
- [3] 汤雪明,1988。大鼠睾丸间质细胞的自体吞噬活动。实验生物学报,21(1): 119—129。
- [4] 郑国锠,1984。细胞生物学。112—125页。高等教育出版社。
- [5] 唐佩华,1988。莲果皮发育及其结构的扫描电镜观察。植物学报,30(3): 248—253。
- [6] 唐佩华、孙德兰、赵京、苏秀珍、姜华,1989。莲子叶发育过程中的光学和电子显微镜观察。植物学报,31(10): 750—756。
- [7] 梁天干,1984。植物细胞学。117—132页。福建科学技术出版社。
- [8] Adler, K. and Müntz, K., 1983. Origin and development of protein bodies in cotyledons of *Vicia faba*. Proposal for an uniform mechanism. *Planta*, 157(5): 401—410.
- [9] Bain, J. M. and Mercet, F. V., 1966. Subcellular organization of the developing cotyledons of *Pisum sativum* L. *Aust. J. Biol. Sci.*, 19: 49—67.
- [10] Bergfeld, R., Kühn, T. and Schopfer, P., 1980. Formation of protein storage bodies during embryogen-

- sis in cotyledons of *Sinapis alba* L. *Planta*, 148(2): 146—156.
- [11] Briarty, L. G., Could, D. A. and Boulter, D., 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.*, 20(63): 358—372.
- [12] Craig, S., Goodchild, D. J. and Hardham, A. R., 1979. Structural aspects of protein accumulation in developing pea cotyledons. I. Qualitative and quantitative changes in parenchyma cell vacuoles. *Aust. J. Plant Physiol.*, 6: 81—98.
- [13] Harris, N. and Boulter, D., 1976. Protein body formation in cotyledons of developing cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Ann. Bot. (London)*, 40: 739—744.
- [14] Matile, P., 1975. The lytic compartment of plant cells. *Cell Biology Monographs*, Vol. 1. Springer, New York.
- [15] McConchie, C. A., Johnson, S. and Knox, R. B., 1985. Computer-assisted reconstruction of the male germ unit in pollen of *Brassica campestris*. *Protoplasma*, 127: 57—63.
- [16] Neumann, D. and Weber, E., 1978. Formation of protein bodies in ripening seeds of *Vicia faba* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 173: 167—180.

TYPES SOURCES AND DEVELOPING PATTERNS OF VACUOLES IN MESOPHYLLOUS CELLS OF *NELUMBO NUCIFERA* GAERTN

Tang Peihua, Zhao Jing, Su Xiuzhen and Jiang Hua

(Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing, 100044)

Jiang Zaijie

(Department of Biology, Beijing Normal University, 100875)

Abstract

During the development of cotyledons, the vacuome in mesophyllous cells undergoes drastic changes both in morphology and structure. In developmental stage I, vacuome appears in the meristematic type with several small single vacuoles. 1—2 days later, as soon as the central vacuole started to form, the whole vacuome started to transform into differentiated type. Then many new small vacuoles appeared in cytoplasm and bigger vacuoles. The sources and the developing patterns of vacuoles of *N. nucifera* are diverse and tonoplasts may be formed through: (1) vacuolization and release of the swollen part of the outlayer of nuclear membrane; (2) release and enlargement of the swollen end of dictyosome; (3) budding of tube-like endoplasmic reticulum or release of its swollen end, loss of ribosomes and deformation; (4) invagination of plasmalemma and pinocytosis of a small part of cytoplasm or a drop of vegetative liquid; and (5) division of the center vacuole with boundles of cytoplasm into several small parts. During developmetal stage II and III, the bigger vacuoles divided into smaller ones and the smaller vacuoles fused with each other again. Finally, many vacuole groups with diameters averaging 0.4—1.2 milli micron were formed. They developed in various patterns into lysosomes, spherosomes, microsomes, paramural bodies, autophagic vacuoles, pinocytic vesicles and so on. Some vacuoles later developed into protein bodies and lipid bodies. The article proved that the structure and function of vacuome in cotyledon cells of lotus are similar to those in cotyledon cells of other dicotyledons.

Key words Types of vacuoles, Sources and developing, *Nelumbo nucifera*, Cotyledon

图 版 说 明

图 版 I

1.受精后5天子叶中层外层的细胞(N. 细胞核),示分生型液泡系(V, 液泡)×7 000; 2. 5天子叶中部中央的细胞,示中央液泡(CV)正在形成分化型液泡系(PB. 壁旁体)×7 000; 3.5DAF子叶下部中央的细胞,示阶段II晚期高度液泡化的液泡系×3 000; 4.解体中的中央液泡和它所衍生的自体吞噬泡(AV)和胞饮液泡(PV). (CW. 细胞壁, PM. 质膜)×10 000; 5.新液泡的大量形成,示新生小液泡(NSV),微体(MB)和多泡体(MVB).(TER. 管状内质网)×10 000; 6.新液泡的类型:脂质体(LB)、微体、前圆球体(PSS)和圆球体(SS)×10 000; 7.一个与质体(PT)结合的自体吞噬泡×10 000; 8.两个次级溶酶体(SLS),一个正与液泡结合,界膜尚可见(黑箭头),另一个已与线粒体(M)相结合×40 000; 9.一个与线粒体正在结合的次级溶酶体,示两者间尚存膜状结构(黑箭头)×20 000

1. A mesophyllous cell (MC) (N. nucleus) from the outer layer of cotyledon (MPC) 5 days after fertilization (DAF), showing meristematica type of vacuome (V. vacuole) × 7 000; 2. A MC from the inner-layer of MPC (5 DAF), showing the differentiated type of vacuome; the centre vacuole (CV) is forming. (PB. paramural body) × 7 000; 3. A MC from the inner-layer of the basal part of cotyledon (5 DAF), showing the highly vacuolated vacuome. (CP. a bundle of cytoplasm) × 3 000; 4. The dissociation of CV and CV-produced autophagic vacuole (AV) and pinocytic vesicle (PV). (CW. cell wall, PM. plasmolemmme) ×10 000; 5. Mass formation of new vacuoles, showing newly produced small vacuole (NSV), microbody (MB) and multivesicular body (MVB). (TER. tube-like endoplasmic reticulum)×10 000; 6. Types of new vacuoles: the lipid body(LB), MB, prespherosome (PSS) and spherosome (SS)×10 000; 7. A secondary lysosome (SLS) combined with a plastid (PT) ×10 000; 8. Two SLS. One is combining with V (see the membrane between them, black arrow); the other is combined with a mitochondrion (M) ×40 000; 9. A SLS combining with M, showing the membrane structure (black arrow) still existing between them. × 20 000

图 版 II

10 局部双膜的自体吞噬泡(黑双箭头)及自 AV 中释放的可溶性物质 (AV 内黑单箭头) (ERV. 内质网产生的液泡)×15 000; 11.由核膜(NM)产生新生小液泡×15 000; 12.由高尔基体(D)形成高尔基液泡(GV)×15 000; 13.由质膜内陷形成大小不同的壁旁体×30 000; 14.由管状内质网端部膨大、变成泡状或脱落形成液泡 ×10 000; 15.蛋白质(P)在液泡膜上积聚和向泡内充填 ×10 000

10. A AV with partial two-layered membrane (black double arrow)and the release of soluble material (black single arrow in AV)from AV. (ERV. endoplasmic reticulum vacuole) ×15 000; 11. New samll vacuole produced from the nuclear membrane (NM) ×10 000; 12. The formation of Golgi vacuole (GV) from dictyosome (D) ×15 000; 13. The formation of paramural body through invagination of plasmolemma to various extents × 30 000; 14. The formation of endoplasmic reticulum vacuole through release or deformation of the swelling end of tube-like endoplasmic reticulum ×10 000; 15. Protein (P) mass accumulated on the tonoplast and filling into V. ×10 000

