

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2018-0060

王英男,彭晓媛,华晓雨,臧威,阎秀峰,蔺吉祥.植物子叶生理功能的研究进展.草业科学,2018,35(12):2988-2997.

WANG Y N, PENG X Y, HUA X Y, ZANG W, YAN X F, LIN J X. Research progress on the physiological function of plant cotyledons. Pratacultural Science, 2018, 35(12): 2988-2997.

# 植物子叶生理功能的研究进展

王英男,彭晓媛,华晓雨,臧威,阎秀峰,蔺吉祥

(东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心/东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**子叶是植物种子的的重要组成部分,在种子萌发与幼苗发育初期起着至关重要的作用。其具有营养贮藏、光合同化、胁迫防御等多种功能,在幼苗生长时参与贮藏物质动员、调控幼苗发育、子叶光合能力建成等多种重要生理事件。因此,子叶对于种子萌发、幼苗形成以及植物生活史的完成均有极其重要的意义。近年来,关于子叶的研究多集中于盐碱、水淹等逆境胁迫下子叶生理功能的变化、子叶缺失对幼苗生长的影响以及子叶离体组织培养等方面,但对子叶功能系统性的总结还从未见报道。基于此,本文从子叶的分类及功能、幼苗发育初期子叶相关的重要生理过程等方面对子叶生理功能进行了归纳与总结,指出当前研究中存在的问题和不足,并提出了展望,以期为相关研究提供一定的理论依据。

**关键词:**子叶;功能;贮藏动员;胚根发育;光形态建成

中图分类号:Q944.59;Q945.79

文献标志码:A

文章编号:1001-0629(2018)12-2988-10\*

## Research progress on the physiological function of plant cotyledons

WANG Yingnan, PENG Xiaoyuan, HUA Xiaoyu, ZANG Wei, YAN Xiufeng, LIN Jixiang

(Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University; Key Laboratory of

Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Cotyledon is an important component of plant seed and plays a key role in seed germination and early seedling growth. It has many functions such as nutrition storage, photosynthetic capacity and stress defense. It is involved in the storage of substance mobilization, regulation of seedling development, cotyledon greening and other important physiological events in the early stages of seedling development. During the early seedling growth stage, it is involved in many important physiological events such as storage mobilization, regulation of seedling growth and cotyledon greening. Therefore, cotyledon plays an important role in seed germination, seedling establishment and the completion of plant life cycle. In recent years, the reports of cotyledon were mainly focused on changes of cotyledon physiological functions under saline and flood stresses, effects of cotyledon loss on the seedling growth and cotyledon tissue culture in vitro. However, systematic summary of cotyledon function has never been reported. Based on this, the paper summarized the physiological function of cotyledon, including classification, function, and the important physiological processes related to cotyledon at the early seedling stage. We also point out the problems and shortcomings in the present research, and provide reference for relevant research.

**Keywords:** cotyledon; function; storage mobilization; radicle development; photomorphogenesis

**Corresponding author:** LIN Jixiang E-mail:jixiang851012@gmail.com

\* 收稿日期:2018-01-24 接受日期:2018-04-24

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(2572018BS02)

第一作者:王英男(1989-),男,黑龙江哈尔滨人,在读博士生,主要从事植物生理生态学研究。E-mail:yingnan1027@foxmail.com

通信作者:蔺吉祥(1985-),男,黑龙江哈尔滨人,副教授,博士,主要从事植物逆境生理生态研究。E-mail:jixiang851012@gmail.com

子叶(cotyledon)是植物种子的的重要组成部分,在种子萌发与幼苗发育初期起到关键作用<sup>[1]</sup>。无胚乳植物种子在萌发过程中,子叶肥厚,贮藏着淀粉、脂肪酸以及蛋白质等营养物质,为种子萌发提供所需物质和能量<sup>[2]</sup>。而对于有胚乳种子,子叶通常并不发达,但可以从胚乳中吸收并转运一定的营养物质,供胚发育<sup>[3-4]</sup>。在幼苗发育初期,一些植物的子叶能够在第一片真叶具备光合能力之前,通过光合作用为幼苗提供大量的光合同化物,子叶还能够感知光信号,并通过信号分子的长距离传递,从而调控幼苗的发育<sup>[5]</sup>。此外,子叶还能够通过形态与生理功能的变化,参与幼苗抵御外界逆境胁迫的过程<sup>[6]</sup>。因此,子叶对于种子萌发、幼苗形成以及植物生活史的完成均有极其重要的意义。

目前,对于子叶生理功能的报道还很少见,已有研究多集中于盐碱、水淹等逆境胁迫下子叶生理功能的变化<sup>[7-8]</sup>、子叶缺失对幼苗生长的影响<sup>[9-10]</sup>以及子叶离体组织培养<sup>[11-12]</sup>等方面,但对子叶功能系统性的总结从未见报道。基于此,本文从子叶的分类及功能、幼苗发育初期子叶相关的重要生理过程等方面进行归纳与总结,分析当前研究中存在的问题与不足,并提出研究展望,以期对相关研究提供参考。

## 1 子叶类型

### 1.1 单子叶与双子叶

子叶是植物最早出现的叶,而不同植物子叶数目

也有所差异,因此可以将子叶数目作为植物分类的依据。英国博物学家约翰雷(John Ray)在《植物新方法》中第一次提出有的植物有2片子叶,而有的植物只有1片子叶,这对认知植物分类学有着重要的科学意义。随着植物分类学的不断发展,植物学家根据成熟胚中子叶的数目对被子植物进行分类,成熟胚只有1片子叶的称为单子叶植物(Monocotyledon),如水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)、洋葱(*Allium cepa*)等。有2片子叶的称为双子叶植物(Dicotyledon),如豆类、瓜类、棉花(*Gossypium* spp.)、油菜(*Brassica napus*)、蓖麻(*Ricinus communis*)等(图1)<sup>[13-14]</sup>。

### 1.2 出土型子叶与留土型子叶

不同植物的种子在萌发过程中,由于胚轴的生长速度不同,幼苗形态也存在一定差异。在种胚中,胚轴是连接胚芽与胚根的营养器官,同时也与子叶相连。由子叶着生点到第一片真叶之间的胚轴为上胚轴;由子叶着生点到胚根的一段为下胚轴。依据上、下胚轴在种子萌发时生长速度的不同,可以将植物子叶分为出土型子叶与留土型子叶。如蓖麻种子在萌发时,胚根首先突破种皮,伸入土中,形成主根,然后下胚轴加速伸长,将子叶和胚芽一同顶出土面,因此蓖麻的子叶为出土型子叶,大豆(*Glycine max*)、棉花、油菜和各种瓜类的子叶均属于此类型子叶。而在蚕豆(*Vicia faba*)种子萌发时,胚根先突破种皮,向下生长成为主根。由于上胚轴的伸长,胚芽不久就被顶出土面,而下

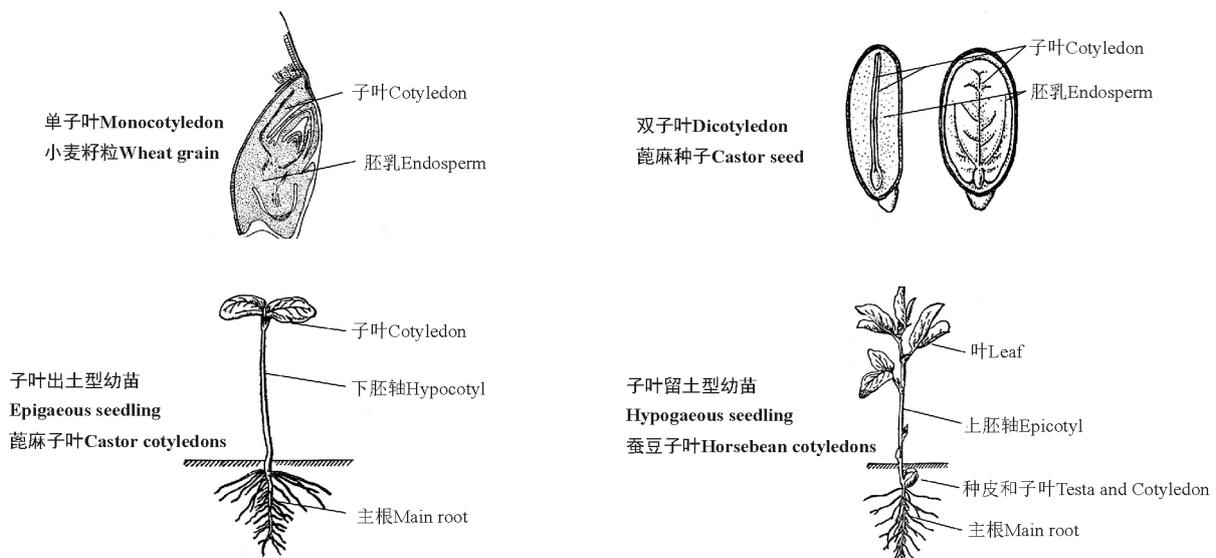


图1 小麦籽粒纵切图、蓖麻种子结构、蓖麻的出土型子叶、蚕豆的留土型子叶

Fig. 1 Longitudinal section of a wheat grain, castor seed structure, the cotyledons of castor that epigeaeous seedling, and the cotyledons of broad bean that hypogaeous seedling

胚轴的伸长并不明显,子叶始终埋在土中。因此,蚕豆的子叶为留土型子叶,芸豆(*Phaseolus vulgaris*)、荔枝(*Litchi chinensis*)、柑橘(*Citrus reticulata*)、小麦、玉米等的子叶都属于留土型子叶(图 1)。

## 2 子叶功能

### 2.1 营养贮藏

一般来说,胚乳是种子集中贮藏营养的地方,但也有些植物种子不具胚乳,这类种子在生长发育时,胚乳的养料通常被胚吸收,并转入子叶中贮藏,所以成熟的种子里胚乳消失,或仅存一层干燥的薄层,不起贮藏营养的作用。对于此种类型的植物种子,子叶起到了贮藏营养的功能。大豆、落花生(*Arachis hypogaea*)、蚕豆、棉、油菜、瓜类等子的子叶,都具有营养贮藏的功能。而不同类型植物子叶中所贮藏的养分种类也有较大差异,在油菜、黄瓜(*Cucumis sativus*)子叶中主要以油脂为贮藏物质,并以三酰甘油的形式存储于脂体中<sup>[15-16]</sup>。当种子萌发后,三酰甘油经脂肪酶催化释放脂肪酸,通过脂肪酸代谢为种子萌发和幼苗早期生长提供营养物质和能量<sup>[17-18]</sup>。而大豆子叶内含蛋白质较多,主要以沉降系数为 7S、11S 贮藏蛋白为主<sup>[19]</sup>。种子萌发后,贮藏蛋白经蛋白酶催化降解为氨基酸,随后通过氨基酸代谢,一方面为种子萌发和早期幼苗生长提供内源性的氮源及碳骨架,另一方面通过氨基酸代谢的中间产物  $\alpha$ -酮戊二酸参与三羧酸循环,为种子萌发和早期幼苗生长提供能量<sup>[20]</sup>。

### 2.2 光合作用

种子萌发后,子叶出土型的植物(如大豆),一般子叶比较肥厚,其贮藏的营养消耗殆尽后,就干瘪脱落。而棉花等植物种子子叶较薄,出土后立即展开变绿,开始进行光合作用,待真叶展开后,子叶枯萎脱落。此外,蓖麻等植物子叶出土后,能够长时间进行光合作用,即使真叶展开后一段时间也并不脱落。这种具有光合能力的子叶在真叶成为主要光合贡献者之前,能够为幼苗的生长提供大量的光合同化物。前人已有较多研究报道了子叶光合作用对幼苗生长的影响,如对白菜(*Brassica pekinensis*)子叶遮光的研究中发现,子叶遮蔽后幼苗株高及生物量与对照组相比分别下降了 31.1% 和 24.9%<sup>[21]</sup>。而 Hou 等<sup>[22]</sup>在甜瓜(*Cucumis melo*)子叶生长对幼苗光合作用贡献的研究结果中表明,甜瓜子叶的光合贡献率随苗龄的增加而降低,在子叶展平期为 100%,进入伸蔓期后仅为 5%。对黄瓜幼苗的研究中发现,黄瓜幼苗子叶仅用 50% 的光合面积提供了近 80% 的  $\text{CO}_2$  同化量。因此,在植物幼苗发育

初期,子叶为幼苗的生长提供了大量的光合同化物,促进了幼苗的发育<sup>[23]</sup>。

### 2.3 胁迫防御

幼苗在生长发育过程中,会受到干旱、盐碱、温度、虫害等诸多生物与非生物胁迫的影响。而作为植物生长发育过程中最早出现的叶器官,子叶在抵御胁迫时也起到了重要作用。在长期进化的过程中,子叶形成了一系列的防御机制,以适应和抵御不同类型的胁迫。如在萝卜(*Raphanus sativus*)子叶受害虫啃食的研究中发现,当子叶受到害虫啃食后,产生了形态上的防御,其受损子叶上下表皮颗粒明显增多,且上表皮毛明显增多,同时表皮毛上也存在颗粒状复合体<sup>[6,24]</sup>。在对水稻子叶受白叶枯菌感染的研究中发现,感染后的水稻子叶中与抗病途径相关 *OsPR1B* 基因表达量显著上调,从而激活表达下游相应的病程相关基因表达,进而对抗病相关的信号途径产生影响,使水稻对白叶枯菌产生防御能力<sup>[25-26]</sup>。此外,子叶在非生物胁迫下同样能够对幼苗起到保护作用。如对铅胁迫下海榄雌(*Avicennia marina*)子叶生理功能研究中发现,铅胁迫下海榄雌子叶内可溶性糖含量显著下降,而在幼苗根和叶中可溶性糖含量显著增加,说明子叶在铅胁迫下为根、叶提供了营养,补偿了由于铅胁迫所造成的幼苗养分亏缺,从而在一定程度上增强了幼苗抵御铅胁迫的能力<sup>[27]</sup>。而在对盐胁迫下囊果碱蓬(*Suaeda physophora*)的研究中发现,与真叶相比,子叶中  $\text{Na}^+$  离子含量较高,且有着较高的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ,说明子叶起到了一定富集  $\text{Na}^+$  的作用,从而降低了碱蓬幼苗其他部位  $\text{Na}^+$  含量,缓解了盐胁迫对幼苗的损伤<sup>[28]</sup>。

总之,子叶在植物生长中的功能主要就是以上 3 种(表 1)。

## 3 幼苗发育初期子叶相关重要生理过程

### 3.1 贮藏物质动员

**3.1.1 蛋白质动员** 种子贮藏蛋白在种子成熟期合成,这类蛋白没有酶催化活性,主要为幼苗的生长提供所需的氮源和碳源。在豆科植物刺毛黧豆(*Mucuna pruriens*)子叶超微结构及生理研究中发现,子叶中贮藏蛋白的动员早在种子萌发结束前就已开始,且动员时间主要集中在种子吸胀后 48~72 h,晚于胚轴中蛋白质动员<sup>[29]</sup>。在豌豆(*Pisum sativum*)的研究中也发现了相似的结果<sup>[30]</sup>。贮藏蛋白的降解主要通过种子成熟时合成及在种子萌发后蛋白质体中新合成的蛋白酶催化<sup>[31]</sup>,而蛋白质动员过程中蛋白酶

活性的调节对于幼苗的发育有着极为重要的意义,通过蛋白酶活性的调节使贮藏蛋白从积累转变为动员过程,从而为种子的萌发及幼苗的发育提供养分<sup>[32]</sup>(表2)。蛋白酶催化的蛋白质动员过程主要在处于适宜酸性 pH 的蛋白质贮藏泡(PSVs)中进行<sup>[33]</sup>。He 和 Tan-Wisson<sup>[34]</sup>运用免疫电镜及激光共聚焦扫描电镜观察了大豆子叶 PSVs 中贮藏蛋白的水解过程,提出贮藏蛋白动员过程主要受 PSVs 酸化程度的调控。而对南瓜(*Cucurbita pepo*)幼苗子叶 PSVs 的进一步研究中发现,PSVs 维持较为适宜的

酸性 pH 主要依靠两种膜结合质子转运蛋白 H<sup>+</sup>-ATPases 与 H<sup>+</sup>-PPases 实现<sup>[35]</sup>。Wilson 等<sup>[36]</sup>对大豆子叶蛋白质动员过程的研究中发现,对萌发后 3 和 6 d 的子叶进行 H<sup>+</sup>-PPases 抑制剂亚氨基二磷酸盐(IDP)处理后,蛋白质动员过程差异较大,萌发后 6 d 子叶的 IDP 抑制处理蛋白质动员效率显著低于萌发后 3 d 的 IDP 抑制处理,说明在幼苗发育初期主要由 H<sup>+</sup>-ATPases 调节 PSVs 中的 pH,进而调节蛋白质动员过程,而在幼苗发育中后期则主要由 H<sup>+</sup>-PPases 调节。

表1 子叶在植物生长过程中的功能

Table 1 Function of cotyledons in plant growth processes

功能 Function	功能描述 Functional description	参考文献 Reference
营养贮藏 Nutrition storage	为种子萌发和早期幼苗生长提供物质和能量 Provides material and energy for seed germination and early seedling growth	[10-17]
光合作用 Photosynthetic capacity	为幼苗的生长提供了大量的光合同化物,促进幼苗的发育 Provides a large number of photoassimilates to promote the development of the seedlings	[21-23]
胁迫防御 Stress defense	通过生理与形态的改变以适应和抵御不同类型的胁迫 Adaptation and resistance to different types of stress through physiological and morphological changes	[24-29]

表2 幼苗发育初期子叶蛋白质动员

Table 2 Cotyledon protein mobilization at the early stage of seedling development

研究类别 Category of study	相关描述 Related description	参考文献 Reference
动员时间 Mobilization time	主要集中在种子吸胀后 48~72 h Between 48 h and 72 h after the seed imbibition	[29-30]
催化酶类 Catalytic enzyme	由种子成熟时合成及在种子萌发后新合成的蛋白酶催化 The mobilization process is catalyzed by protease which is synthesized at the time of seed maturity and germination	[31]
反应场所 Reaction site	蛋白质贮藏泡(PSVs) Protein storage vacuole	[32-33]
调控机制 Regulation mechanism	通过两种膜结合质子转运蛋白 H <sup>+</sup> -ATPases 与 H <sup>+</sup> -PPases 调节 PSVs 酸化程度 Regulation of PSVs acidification through two kinds of membrane-bound proton transport protein H <sup>+</sup> -ATPases and H <sup>+</sup> -PPases	[34-36]

3.1.2 脂肪酸动员 油脂是油料作物种子的主要贮藏物质,主要存储在子叶等贮藏组织细胞的特定细胞器——油体(Lipid bodies)中<sup>[37]</sup>。在向日葵(*Helianthus annuus*)等油料作物种子中,脂肪酸以亚油酸

[LA, (9Z, 12Z)-octadeca-9, 12-dienoic acid]的形式,经酯化作用存储于甘油三脂(TAGs, triacylglycerols)

中<sup>[38]</sup>。油脂的动员主要在子叶中分步进行,首先油体中的 TAGs 被脂酶水解为 LA 和甘油。甘油进入细胞质,磷酸化为二羟丙酮磷酸,经糖酵解过程转化为丙酮酸,然后经三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)氧化为 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O。二羟丙酮磷酸也可以在醛缩酶的催化下生成己糖。LA 降解则在乙醛酸循环体中进行, Behrends 等<sup>[39]</sup>、程红焱和宋松泉<sup>[40]</sup>运用同位素标记技术研究脂肪酸在黄瓜幼苗子叶中的代谢过程,发现在子叶中脂肪酸降解主要通过 β 氧化途径降解为乙酰辅酶 A,随后乙酰辅酶 A 在异柠檬酸裂解酶的作用下通过乙醛酸循环生成丙酮酸,进而参与糖异生过程,生成大量糖类,并转运到胚轴,以供幼苗生长之需。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)幼苗生长初期,子叶中 β 氧化在脂肪酸转化为糖的过程中起到了关键作用<sup>[41]</sup>。

子叶中脂肪酸代谢过程除 β 氧化途径外,还存在脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)催化的脂肪酸氧化途径<sup>[42]</sup>。对子叶脂肪酸代谢的研究发现,向日葵与黄瓜幼苗子叶中均存在脂氧合酶催化的脂肪酸氧化途径,并认为该途径主要功能是参与含氧脂肪酸衍生物的降

解<sup>[43]</sup>。脂氧合酶是一种含非血红素铁的加氧酶,其在生物体内的主要功能是专一催化具有顺-1, 4-戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸的加氧反应,由脂氧合酶催化的脂肪酸氧化途径被称为 LOX 途径。该途径是指在有氧条件下多元不饱和脂肪酸被脂加氧酶催化生成氢过氧化脂肪酸,经一系列分支酶作用,生成具有一定生理功能的化合物的过程。在高等植物体内 LOX 途径以<sup>18</sup>C 脂肪酸(亚油酸、亚麻酸等)为初始底物,因此 LOX 途径又称十八碳途径<sup>[44]</sup>。根据<sup>18</sup>C 脂肪酸氧化位置的不同,高等植物 LOX 分为 2 类,即 9-LOX 和 13-LOX,它们氧化<sup>18</sup>C 脂肪酸分别产生 9-(9-HPOD)和 13-过氧化氢衍生物(13-HPOD)。Weichert 等<sup>[45]</sup>通过高效液相色谱(HPLC)对黄瓜幼苗子叶 LA 脂氧合酶途径代谢产物进行了分析,并对关键酶进行了鉴定,发现子叶中 LOX 主要为 13-LOX,能够催化 LA 生成 13-HPOD,并在乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)、异构酶(isomerase, ISO)等相应酶的催化下进一步转化为各种烯醛和烯醇类化合物,为各种次生代谢产物提供合成前体,从而调节幼苗的生长发育(图 2)。

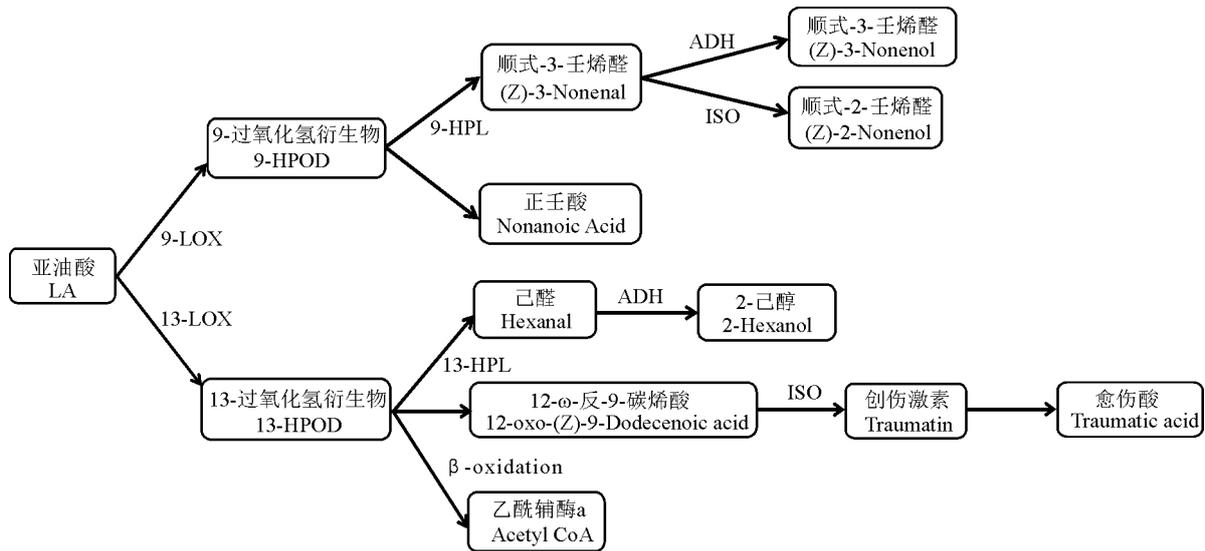


图 2 子叶中脂氧合酶催化的脂肪酸氧化途径

Fig. 2 Fatty acid oxidation pathway catalyzed by lipoxygenase in cotyledon

9-LOX 为 9-脂氧合酶;13-LOX 为 13-脂氧合酶;9-HPL 为 9-过氧化物裂解酶;13-HPL 为 13-过氧化物裂解酶;ISO 为乙醇脱氢酶;ADH 为异构酶。  
9-LOX, 9-Lipoxygenase; 13-LOX, 13-Lipoxygenase; 9-HPL, 9-Hydroperoxide Lyase; 13-HPL, 13-Hydroperoxide lyase; ISO, alcohol dehydrogenase; ADH, isomerase.

### 3.2 调控胚根发育

光形态建成是植物依赖光来控制细胞的分化、结构和功能的改变,最终汇集成组织和器官的建成,即以光控制植物发育的过程<sup>[46]</sup>。光形态建立后,胚根伸长,并开始吸收土壤中的水分和矿质营养<sup>[5,47]</sup>。而子

叶在幼苗光形态建立过程中对胚根的伸长起到了重要的调节作用,从而实现对种子贮藏营养的合理利用。对拟南芥子叶影响胚根生长的研究中发现,子叶光合产物蔗糖是调节胚根伸长的长距离信号的关键。当种子萌发处于黑暗中,种子中贮藏的有限养分主要供胚

轴伸长,而胚根伸长几乎停滞,当胚轴不断伸长,直至将子叶顶出土面后,子叶展开,隐花色素、光敏色素等光信号受体感知光信号后,通过自身构象变化与下游信号分子相互作用;光敏色素相互作用因子(phytochrome-interacting factors, PIFs)是一类能够与光敏色素相互作用的转录因子家族,其中 PIF3 对叶绿素合成调节酶基因 *HEMA1*、*GUN5* 以及光合系统 PSI 中 *LHCA1*、*PsaE1* 基因的表达起负调控作用<sup>[48]</sup>; PIF1 则能够与原叶绿素酸酯氧化还原酶 POR 的启动子相互作用,控制叶绿素的合成<sup>[49]</sup>。当光敏色素感受光信号后与 PIFs 相互作用并转移至核内,启动自身磷酸化进而启动子叶光合作用相关基因的表达<sup>[50]</sup>。当子叶光合作用启动后,通过向胚根输送大量的光合作用产物蔗糖,促进胚根的伸长,使胚根能够从土壤中获得幼苗生长所需的水分及矿质营养。

### 3.3 子叶绿化

子叶绿化标志幼苗具备了通过自身光合作用为植

物生长提供营养的能力,其对幼苗根系的生长以及真叶的形成与发育起着至关重要的作用,因此子叶绿化是幼苗发育初期的一个重要生理过程(图 3、表 3)<sup>[51]</sup>。子叶的绿化过程包括子叶出土前在无光条件下的叶绿素前体原叶绿素酸酯(Pchlde)的合成与积累,以及出土后在有光条件下积累 Pchlde 的还原<sup>[52-53]</sup>。其中 Pchlde 的合成与积累过程是一个多步酶促反应,由底物谷氨酸开始,生成 5-氨基酮戊酸(5-ALA)后,2 分子 5-ALA 合成含吡咯环的胆色素原(PBG),4 个 PBG 分子聚合成原卟啉 IX,随后与镁原子结合,形成镁-原卟啉 IX 经酶催化形成原叶绿素酸酯。Pchlde 的还原过程则主要由原叶绿素酸酯氧化还原酶催化,在光照条件下生成叶绿素酯 a。随后,叶绿素酯 a 在不同酶催化作用下生成叶绿素 a 等光合色素,使子叶叶绿体具备了捕光能力,开始进行光合作用,为幼苗初期的生长发育提供光合同化物。

Pchlde 在光照条件下易产生活性氧(ROS),能

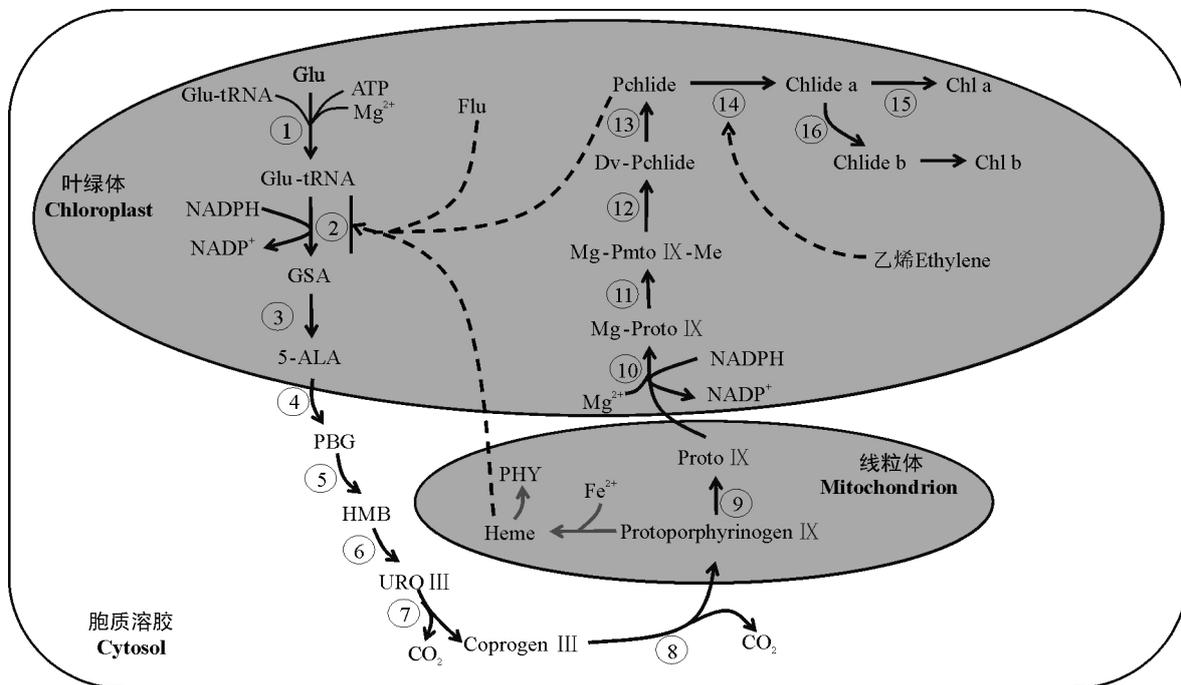


图 3 子叶绿化过程及调控

Fig. 3 The process and control of cotyledon greening

Glu 为谷氨酸; ATP 为三磷酸腺苷; NADPH 为还原型辅酶 II; GSA 为 L-谷氨酸-1-半醛; 5-ALA 为 5-氨基酮戊酸; PBG 为胆色素原; HMB 为羟甲基后胆色素原; URO III 为尿卟啉原 III; Coprogen III 为粪卟啉原 III; Protoporphyrinogen IX 为原卟啉原 IX; Proto IX 为原卟啉 IX; Mg-Proto IX 为镁-原卟啉 IX; Mg-Pmto IX-Me 为镁-原卟啉 IX 单甲酯; Dv-Pchlde 为二乙烯原叶绿素酸酯; Pchlde 为原叶绿素酸酯; Chlide a 为叶绿素酸酯 a; Chl a 为叶绿素 a; Chlide b 为叶绿素酸酯 b; Chl b 为叶绿素 b; Heme 为亚铁血红素; Flu 为荧光蛋白; PHY 为光敏色素。

Glu, glutamyl; ATP, Adenosine triphosphate; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; GSA, L-glutamic acid 1-semialdehyde; 5-ALA, 5-Aminolevulinic acid; PBG, Porphobilinogen; HMB, Hydroxymethylbilane; URO III, Uroporphyrinogen III; Coprogen III, Coproporphyrinogen III; Proto IX, Protoporphyrin IX; Mg-Proto IX, Mg-protoporphyrin IX; Mg-Pmto IX-Me, Mg-protoporphyrin IX monomethyl ester; Dv-Pchlde, Divinyl protochlorophyllide; Pchlde, Protochlorophyllide; Chlide a, Chlorophyllide a; Chl a, Chlorophyll a; Chlide b, Chlorophyllide b; Chl b, Chlorophyll b; Heme, ferroheme; Flu, Fluorescent protein; PHY, Phytochrome.

表 3 子叶绿化过程中的催化酶  
Table 3 Catalytic enzymes in the process of cotyledon greening

步骤 Step	催化酶名称 Name of the enzyme	反应场所 Reaction site
1	谷氨酰 t-RNA 合酶 Glutamate-tRNA synthase	叶绿体 Chloroplast
2	谷氨酰-tRNA 还原酶 Glutamy t-tRNA reductase	叶绿体 Chloroplast
3	谷氨酸酯-1-半醛 2,1 氨基变位酶 Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase	叶绿体 Chloroplast
4	5-氨基酮戊酸脱水酶 5-Amino levulinic acid dehydratase	细胞质基质 Cytosol
5	胆色素原脱氨酶 Hydroxymethylbilan synthase	细胞质基质 Cytosol
6	尿卟啉原 III 合成 Uroporphyrinogen III synthase	细胞质基质 Cytosol
7	尿卟啉原 III 脱羧酶 Uroporphyrinogen III decarboxylase	细胞质基质 Cytosol
8	粪卟啉原 III 氧化酶 Coproporphyrinogen III oxidase	线粒体 Mitochondria
9	原卟啉原氧化酶 Protoporphyrinogen oxidase	线粒体 Mitochondria
10	Mg-螯合酶 H 亚基 Magnesium chelatase H subunit Mg-螯合酶 I 亚基 Magnesium chelatase I subunit Mg-螯合酶 D 亚基 Magnesium chelatase D subunit	叶绿体 Chloroplast 叶绿体 Chloroplast 叶绿体 Chloroplast
11	Mg-原卟啉 IX 甲基转移酶 Magnesiumproto IX methyltransferase	叶绿体 Chloroplast
12	Mg-原卟啉 IX 单甲基酯环化 Mg-protoporphyrin IX monomethylester cyclase	叶绿体 Chloroplast
13	3,8-联乙烯叶绿素酸酯 a 8-乙烯基还原酶 3,8-Divinylprotochlorophyllide 8-vinylreductase	叶绿体 Chloroplast
14	原叶绿素酸酯氧化还原酶 Protochlorophyllide oxidoreductase	叶绿体 Chloroplast
15	叶绿素合酶 Chlorophyll synthase	叶绿体 Chloroplast
16	叶绿素酸酯 a 加氧酶 Chlorophyllide a oxygenase	叶绿体 Chloroplast

能够对细胞膜产生严重的光氧化损伤。因此,合理地调节 Pchlidi 在子叶中的含量对于子叶绿化过程的顺利进行,以及幼苗的正常发育均具有较为重要的意义。Glu-tRNA 还原酶是 5-ALA 合成的限速酶,通过对其酶活性的调节能够从源头控制 Pchlidi 在子叶中的含量。Flu 蛋白是一个分子量 27 kD、定位于质体的膜蛋白,由 apel 等在过量积累原叶绿素酸酯的拟南芥 Flu 缺陷型中被鉴定<sup>[54]</sup>。Flu 蛋白能够与 Glu-tRNA 还原酶 C 端的卷曲螺旋结构域特异性结合,从而抑制 Glu-tRNA 还原酶活性<sup>[55]</sup>。对油菜子叶 5-ALA 调控的研究发现,当 Pchlidi 过量时通过 Flu 蛋白参与 Glu-tRNA 还原酶活性的负反馈调节。在黑暗中生长的 Flu 缺陷型植株中,由于 Glu-tRNA 还原酶活性缺乏 Flu 蛋白的抑制,原叶绿素酸酯大量积累<sup>[56]</sup>。在对挪威云杉(*Picea abies*)子叶的研究中也有相似的结果,暗处理下 Flu 蛋白积累量显著高于光照处理, Glu-tRNA 还原酶活性明显降低,从而降低了 5-ALA 和合成速率,限制了 Pchlidi 在子叶中的积累<sup>[57]</sup>。除子叶中 Flu 蛋白对 Pchlidi 含量的调控外,植物激素乙烯在子叶 Pchlidi 含量调节中也发挥了较为重要的作用。Zhong 等<sup>[58]</sup>通过启动子融合 GUS 的方法,分析了拟南芥子叶中植物激素乙烯对原叶绿素酸酯氧化还原酶

(*POR*)基因表达的影响,发现通过 AgNO<sub>3</sub> 处理阻断乙烯信号转导后,子叶中 *POR* 基因未表达,该结果证实了乙烯能够调节 *POR* 基因的表达,进而影响了 Pchlidi 在子叶中的含量。而在进一步的研究中,通过对拟南芥 Flu 缺陷型子叶进行乙烯处理,显著降低了子叶中 Pchlidi 的含量,且 ROS 也有较大幅度的下降,说明子叶中存在一种由乙烯调控、不依赖 Flu 蛋白的 Pchlidi 调节方式<sup>[58]</sup>。

#### 4 展望

子叶在高等植物发育过程中参与了诸多重要的生理过程,不但能够为幼苗的发育提供营养及能量,还能够对幼苗的发育过程进行调节,且在幼苗响应生物与非生物胁迫过程中也起到了关键作用。综合分析发现,虽然关于子叶生理功能的研究已见大量报道,但研究大多集中于宏观水平,诸多机制还不明确,且缺乏对分子机理的深入理解,今后的研究需要在以下几个方面进一步深入:

1) 利用基因芯片技术检测子叶绿化过程中基因表达水平的变化,同时要充分考虑不同植物的种类、相关基因的亚细胞定位以及外界条件变化,以便更确切地分析子叶绿化过程的影响机制及其调控特点。

2) 结合转录组学与蛋白组学技术手段,在基因和蛋白层次解析子叶响应生物与非生物胁迫过程中的分子调控网络,鉴别子叶响应胁迫的相关调控基因与参与防御作用的功能蛋白质,从而更加系统地解析子叶在抵御生物与非生物胁迫过程中的途径与机理。

3) 利用代谢组学高通量检测的技术特点并结合生物信息学的方法,分析油料作物子叶中脂肪酸的代谢过程,分析其代谢网络结构、限速步骤,从而更加全面、系统地理解子叶在贮藏物质动员过程中的重要作用。

#### 参考文献 References:

- [1] AMPOFO S T, MOORE K G, LOVELL P H. The role of the cotyledons in four acer species and in *Fagus sylvatica* during early seedling development. *New Phytologist*, 2010, 76(1): 31-39.
- [2] VALKÓ O, TÓTHMÉRÉSZ B, KELEMEN A, SIMONE, MIGLÉCZ T. Environmental factors driving seed bank diversity in alkali grasslands. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2014, 182(1): 80-87.
- [3] SONG J, FENG G, TIAN C, ZHANG F. Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed-germination stage. *Annals of Botany*, 2005, 96(3): 399-405.
- [4] SCHMAL J L, JACOBS D F, O'REILLY C. Nitrogen budgeting and quality of exponentially fertilized *Quercus robur*, seedlings in Ireland. *European Journal of Forest Research*, 2011, 130(4): 557-567.
- [5] LAU O S, DENG X W. Plant hormone signaling lightens up: Integrators of light and hormones. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(5): 571-577.
- [6] 栾志慧. 植物子叶生长及其功能性状研究. 长春: 东北师范大学博士学位论文, 2015.  
LUAN Z H. Study on plant cotyledon growth and functional traits. PhD Thesis. Changchun: Northeast Normal University, 2015.
- [7] KOMATSU S, MAKINO T, YASUE H. Proteomic and biochemical analyses of the cotyledon and root of flooding-stressed soybean plants. *PLoS One*, 2013, 8(6): 1-13.
- [8] RUFFINO A M C, ROSA M, HILAL M, GONZÁLEZ J A, PRADO F E. The role of cotyledon metabolism in the establishment of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings growing under salinity. *Plant and Soil*, 2010, 26(1/2): 213-224.
- [9] ZHENG W, YANG J Y, LUAN Z H, WANG P, ZHANG H X, ZHOU D W. Compensatory growth and photosynthetic responses of *Pharbitis purpurea*, seedlings to clipped cotyledon and second leaf. *Photosynthetica*, 2011, 49(1): 21-28.
- [10] MANCILLA-LEYTÓN J M, CAMBROLLÉ J, FIGUEROA M E. Growth and survival of cork oak (*Quercus suber*) seedlings after simulated partial cotyledon consumption under different soil nutrient contents. *Plant and Soil*, 2013, 370(1/2): 381-392.
- [11] 张丽杰, 赵丽蒙, 陆秀君, 沈海龙. 水曲柳子叶和下胚轴愈伤组织和体胚的诱导. *分子植物育种*, 2015, 13(7): 1645-1652.  
ZHANG L J, ZHAO L M, LU X J, SHEN H L. Callus induction and somatic embryogenesis from zygotic cotyledons and hypocotyls of *Fraxinus mandshurica* Rupr. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(7): 1645-1652.
- [12] 段莹莹, 赵琳, 陈李淼, 李文滨. 农杆菌介导的大豆子叶节和下胚轴转化方法的比较及优化. *大豆科学*, 2010, 29(4): 590-593.  
DUAN Y Y, ZHAO L, CHEN L M, LI W B. Comparison and optimization of the agrobacterium-mediated transformation of soybean by using cotyledonary node and hypocotyl explants. *Soybean Science*, 2010, 29(4): 590-593.
- [13] 孟婷婷, 倪健, 王国宏. 植物功能性状与环境及生态系统功能. *植物生态学报*, 2007, 31(1): 150-165.  
MENG T T, NI J, WANG G H. Plant functional traits, environments and ecosystem functioning. *Journal of Plant Ecology*, 2007, 31(1): 150-165.
- [14] 张业. 油松天然林林内主要植物种的叶功能性状研究. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2012.  
ZHANG Y. The research of leaf functional traits of *Pinus tabulaeformis*. Master Thesis. Beijing: Beijing Forestry University, 2012.
- [15] 陆时万. 植物学. 北京: 高等教育出版社, 1991: 68-80.  
LU S W. Botany. Beijing: Higher Education Press, 1991: 68-80.
- [16] BIERMANN U, FRIEDT W, LANG S, LÜHS W, MACHMÜLLER G, METZGER U O. New syntheses with oils and fats as renewable raw materials for the chemical industry. *Angewandte Chemie International Edition*, 2000, 39(13): 2206-2224.
- [17] PENFIELD S, PINFIELDWELLS H M, GRAHAM I A. Storage reserve mobilisation and seedling establishment in *Arabidopsis*. *The Arabidopsis Book*, 2006, 4(4): 1-17.
- [18] GRAHAM I A. Seed storage oil mobilization. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59(1): 115-142.

- [19] 王显生,麻浩,向世鹏,张国正,崔国贤.不同 SDS-PAGE 分离胶浓度条件下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果.中国油料作物学报,2004,26(2):75-80.  
WANG X S, MA H, XIANG S P, ZHANG G Z, CUI G X. The resolving effect of soybean storage protein subunits under different separation gel concentrations of SDS-PAGE. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(2): 75-80.
- [20] KAWAI M, SUZUKI S, ASANO M, MIWA T, SHIBAI H. Characterization of 30-kDa fragments derived from conglycinin degradation process during germination and seedling growth of soybean. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1997, 61(5):794-799.
- [21] 安志信. 大白菜子叶光合功能及其对幼苗和产量的影响. 园艺学报, 1990(4):288-292.  
AN Z X. The role of Chinese cabbage cotyledons in photosynthesis and its effect on seedling growth and heading yield. Acta Horticulture Sinica, 1990(4):288-292.
- [22] HOU Y P, KANG E X, CHEN N L, ZHANG Y X. Study on dynamic growth of cotyledons leaves on seedling photosynthesis in greenhouse muskmelon. Gansu Agricultural Science and Technology, 2012(5):10-12.
- [23] ZHENG W, WANG P, ZHANG H, ZHOU D W. Photosynthetic characteristics of the cotyledon and first true leaf of castor (*Ricinus communis* L.). Australian Journal of Crop Science, 2011, 5(6):702-708.
- [24] 任青吉,李宏林,卜海燕.玛曲高寒沼泽化草甸 51 种植物光合生理和叶片形态特征的比较.植物生态学报,2015,39(6):593-603.  
REN Q J, LI H L, BU H Y. Comparison of physiological and leaf morphological traits for photosynthesis of the 51 plant species in the Maqu alpine swamp meadow. Chinese Journal of Plant Ecology, 2015, 39(6):593-603.
- [25] LUAN Z H, ZHOU D W. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) OsPR1b-interacting factors and their roles in resisting bacterial blight. Genetics and Molecular Research: GMR, 2015, 14(1):68-74.
- [26] KRÜGER J, THOMAS C M, GOLSTEIN C, DIXON M S, SMOKER M, TANG S. A tomato cysteine protease required for Cf-2-dependent disease resistance and suppression of autonecrosis. Science, 2002, 296:744-747.
- [27] YAN Z Z, LIN K, TAM F. Lead stress in seedlings of *Avicennia marina*, a common mangrove species in South China, with and without cotyledons. Aquatic Botany, 2010, 92(2):112-118.
- [28] ZHOU J C, ZHAO W W, YIN C H, SONG J, WANG B S, FAN J L. The role of cotyledons in the establishment of *Suaeda physophora* seedlings. Giornale Botanico Italiano, 2014, 148(4):584-590.
- [29] MUCCIFORA S, GUERRANTI R, MUZZI C, HOPE-ONYEKWERE N S, PAGANI R, LEONCINI R. Ultrastructural and biochemical investigations of protein mobilization of *Mucuna pruriens* cotyledons and embryo axis. Protoplasma, 2010, 239(1/4):15-21.
- [30] MURRAY D R, PEOPLES M B, WATERS S P. Proteolysis in the axis of the germinating pea seed. Planta, 1979, 147(2):117-121.
- [31] GHOSH S, PAL A. Identification of differential proteins of mungbean cotyledons during seed germination: A proteomic approach. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(6):2379-2391.
- [32] TAN-WILSON A L, WILSON K A. Mobilization of seed protein reserves. Physiologia Plantarum, 2012, 145(1):140-153.
- [33] MÜNTZ K. Protein dynamics and proteolysis in plant vacuoles. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(10):2391-2407.
- [34] HE F, TAN-WILSON A. Protein storage vacuole acidification as a control of storage protein mobilization in soybeans. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(5):1059-1070.
- [35] MAESHIMA M, HARA-NISHIMURA I, TAKEUCHI Y, NISHIMURA M. Accumulation of vacuolar H<sup>+</sup>-Pyrophosphatase and H<sup>+</sup>-ATPase during reformation of the central vacuole in germinating pumpkin seeds. Plant Physiology, 1994, 106(1):61-69.
- [36] WILSON K A, CHAVDA B J, PIERRE-LOUIS G, QUINN A, TAN-WILSON A. Role of vacuolar membrane proton pumps in the acidification of protein storage vacuoles following germination. Plant Physiol Biochem, 2016, 104:242-249.
- [37] KAI H, HUANG A H C. Endoplasmic reticulum, oleosins, and oils in seeds and tapetum cells. Plant Physiology, 2004, 136(3):3427-3434.
- [38] BIERMANN U, FRIEDT W, LANG S, LÜHS W, MACHMÜLLER G, METZGER U O. New Syntheses with oils and fats as renewable raw materials for the chemical industry. Angewandte Chemie International Edition, 2000, 39(13):2206-2224.
- [39] BEHREND S W, THIERINGER R, ENGELAND K, KUNAU W H, KINDL H. The glyoxysomal  $\beta$ -oxidation system in cucumber seedlings: Identification of enzymes required for the degradation of unsaturated fatty acids. Archives of Biochemistry

- and Biophysics, 1988, 263(1): 170-177.
- [40] 程红焱, 宋松泉. 种子萌发过程中贮藏油脂的动员. 植物分类与资源学报, 2007, 29(1): 67-73.  
CHENG H Y, SONG S Q. Seed storage lipid mobilization during germination. Acta Botanica Yunnanica, 2007, 29(1): 67-73.
- [41] MAKOTO H, KANAKO T, MAKI K, MIKIO N. 2,4-Dichlorophenoxybutyric acid-resistant mutants of *Arabidopsis* have defects in glyoxysomal fatty acid  $\beta$ -oxidation. Plant Cell, 1998, 10(2): 183-195.
- [42] FEUSSNER I, KÜHN H, WASTERNAK C. Lipoxygenase-dependent degradation of storage lipids. Trends in Plant Science, 2001, 6(6): 268-273.
- [43] MEYER D, HERRFURTH C, BRODHUN F, FEUSSNER I. Degradation of lipoxygenase-derived oxylipins by glyoxysomes from sunflower and cucumber cotyledons. BMC Plant Biology, 2013, 13(1): 1-11.
- [44] 张红梅, 蔡宝宏, 王俊丽, 廖祥儒. 植物的脂加氧酶. 生命的化学, 2003, 23(2): 146-148.  
ZHANG H M, CAI B H, WANG J L, LIAO X R. Lipoxygenase in plants. Chemistry of Life, 2003, 23(2): 146-148.
- [45] WEICHERT H, KOLBE A, KRAUS A, WASTERNAK C, FEUSSNER I. Metabolic profiling of oxylipins in germinating cucumber seedlings—lipoxygenase-dependent degradation of triacylglycerols and biosynthesis of volatile aldehydes. Planta, 2002, 215(4): 612-619.
- [46] 唐唯其. 植物光信号传导途径的生物信息学分析. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2008.  
TANG W Q. Bioinformatics analysis of plant light signal transduction pathway. Master Thesis, Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2008.
- [47] ARSOVSKI A A, GALSTYAN A, GUSEMAN J M, NEMHAUSER J L. Photomorphogenesis. The Arabidopsis Book, 2012, 10(9): 203-211.
- [48] KIRCHER S, SCHOPFER P. Photosynthetic sucrose acts as cotyledon-derived long-distance signal to control root growth during early seedling development in *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(28): 17-21.
- [49] MOON J, ZHU L, SHEN H, HUQ E. PIF1 directly and indirectly regulates chlorophyll biosynthesis to optimize the greening process in *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(27): 9433-9438.
- [50] 李保珠, 赵孝亮, 彭雷. 植物叶绿体发育及调控研究进展. 植物学报, 2014, 49(3): 337-345.  
LI B Z, ZHAO X L, PENG L. Research advances in the development and regulation of plant chloroplasts. Chinese Bulletin of Botany, 2014, 49(3): 337-345.
- [51] GUAN C, WANG X, FENG J, HONG S, LIANG Y, REN B. Cytokinin antagonizes abscisic acid-mediated inhibition of cotyledon greening by promoting the degradation of abscisic acid insensitive 5 protein in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 2014, 164(3): 1515-1526.
- [52] FUJITA Y. Protochlorophyllide Reduction: A key step in the greening of plants. Plant and Cell Physiology, 1996, 37(4): 411-421.
- [53] LEBEDEV N, TIMKO M P. Protochlorophyllide photoreduction. Photosynthesis Research, 1998, 58(1): 5-23.
- [54] MESKAUSKIENE R, NATER M, GOSLINGS D, KESSLER F, APEL K. FLU: A negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(22): 26-31.
- [55] GOSLINGS D, MESKAUSKIENE R, KIM C, GOSLINGS D, LEE K P, NATER M, APEL K. Concurrent interactions of heme and Flu with Glu tRNA reductase (HEMA1), the target of metabolic feedback inhibition of tetrapyrrole biosynthesis, in dark- and light-grown *Arabidopsis* plants. Plant Journal, 2004, 40(6): 957-967.
- [56] LIU D, KONG D D, FU X K, ALI B, XU L, ZHOU W J. Influence of exogenous 5-aminolevulinic acid on chlorophyll synthesis and related gene expression in oilseed rape de-etiolated cotyledons under water-deficit stress. Photosynthetica, 2016, 54(3): 1-8.
- [57] DEMKO V, PAVLOVIC A, HUDÁK J. Gabaculine alters plastid development and differentially affects abundance of plastid-encoded DPOR and nuclear-encoded GluTR and FLU-like proteins in spruce cotyledons. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(9): 693-700.
- [58] ZHONG S W, HUI S, XI Y P, GUO H. Ethylene is crucial for cotyledon greening and seedling survival during de-etiolation. Plant Signaling and Behavior, 2010, 5(6): 739-742.

(责任编辑 王芳)