

## 甜菊组织培养物中叶绿体的超微结构与脱分化

谢绍萍 欧阳学智

(中山大学孙文学院, 中山 528403)

汪德耀

(厦门大学生物系, 厦门 361005)

**摘要** 含有叶绿体的甜菊 (*Stevia rebaudiana*) 愈伤组织细胞转移至新鲜培养基后, 导致光合片层的逐渐减少或消失, 最后叶绿体脱分化形成原质体样的结构。超微结构观察表明, 光合片层的减少或消失与降解及叶绿体分裂特别是不均等缢缩分裂而致基质组分和类囊体膜稀释有关。这一过程并不完全同步, 一些质体含有少量正常的片层而另一些质体含有退化的片层甚至片层结构完全消失。细胞的一个明显特点是细胞器大多聚集在细胞核附近, 细胞质增加并向细胞中央伸出细胞质丝, 同时可观察到原质体。培养 7d 后, 许多细胞呈分生状态, 细胞质富含细胞器, 充满了细胞的大部分空间。此时细胞中的质体大多呈原质体状态。在细胞生长的稳定期, 质体内膜组织成基质基粒片层, 同时质体核糖体增加。文中讨论了高度液泡化细胞脱分化与细胞中叶绿体脱分化的关系。

**关键词** 甜菊; 组织培养; 叶绿体脱分化; 超微结构

## CHLOROPLAST ULTRASTRUCTURE AND DEDIFFERENTIATION IN TISSUE CULTURES OF *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI

Xie Shaoping Ouyang Xuezhi

(Sunwen College, Zhongshan University, Zhongshan 528403)

Wang Deyao

(Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** Cells of *Stevia rebaudiana* callus tissue contain chloroplasts when cultured in a liquid medium in the light. Transfer of the callus into the fresh culture medium results in the gradual decrease or disappearance of photosynthetic lamellae and the eventual dedifferentiation of chloroplasts to form proplastid-like structures. This decrease or disappearance of photosynthetic lamellae is found to be correlated with the degradation of internal membranes, coupled with the diluting out of stroma constituents and thylakoid membranes due to chloroplast divisions, especially unequal constriction. The process is not completely synchronized so that some plastids still retain a few intact lamellae while other plastids contain degenerating lamellae or have lost the lamellae completely. In addition, some plastids observed at this stage contain one to several starch grains although starch is very rarely found in the inocula. A striking feature at this stage is the apparent grouping of organelles in the vicinity of the nucleus. The cytoplasm has increased in quantity and crosses the cell in bridge-like extensions partially filling in the cell center. At this stage, well defined proplastids are recognized. After 7 days of continuous culture, many cells appear meristematic in that the cytoplasm, rich in organelles, fills most of the cell. The majority of

the plastids found in the cell at this stage are proplastids. They may be present as budded dividing forms or as oval spheroids. Their internal structure consists of randomly positioned single thylakoids resembling those of proplastids in intact development leaves. During the stationary phase of cell growth, the internal membranes of plastids are organized into stacked grana interconnected by stroma thylakoids, and at the same time the plastid ribosomes increase. A correlation was discussed between the dedifferentiation of the highly vacuolate cells induced by the subculturing process and a dedifferentiation of the chloroplasts with the cells.

**Key words** *Stevia rebaudiana*; Tissue culture; Chloroplast dedifferentiation; Ultrastructure

叶绿体的分化作为植物细胞分化研究的一个重要方面而得到了广泛的研究。但对其相反的过程,即叶绿体脱分化为原质体的研究则较少。已有研究证明,将植物叶肉组织<sup>[2]</sup>或细胞<sup>[12]</sup>进行离体培养,或将绿色的含正常叶绿体的愈伤组织进行继代培养时<sup>[17]</sup>,细胞中的叶绿体发生脱分化而成为分生状态的原质体。关于叶绿体脱分化的超微结构变化及原质体发生的问题,已有一些研究。但不同研究者所得的结果不尽相同,如叶绿体脱分化时内膜系统发生退化降解而逐渐减少<sup>[17]</sup>,叶绿体通过出芽产生原质体<sup>[2]</sup>、叶绿体内膜系统退化降解与出芽并存<sup>[6]</sup>、叶绿体组分因分裂而稀释<sup>[15]</sup>。由于叶绿体本身含有DNA,在遗传上表现一定的自主性,同时叶绿体又是一些激素类物质生物合成的重要细胞器,而激素又是植物细胞生长与分化的重要调节因子。因此,在细胞脱分化时叶绿体结构与功能的变化必然对整个细胞的状态起重要作用,且与细胞全能性的表达有密切关系<sup>[18]</sup>。我们在前文<sup>[9]</sup>已报道了甜菊叶肉细胞脱分化及愈伤组织形成过程中叶绿体的超微结构变化及原质体的发生。本文报道由甜菊叶诱导的愈伤组织在重新诱导分裂时叶绿体脱分化的超微结构变化,并对某些尚值得商榷的基本概念进行了讨论。

## 1 材料和方法

甜菊叶愈伤组织诱导与培养条件同前文<sup>[9]</sup>。30d后从诱导的呈绿色的愈伤组织中选取最绿的愈伤组织块转入改良MS培养基(MS无机盐,维生素-B<sub>1</sub> 0.5mg L<sup>-1</sup>,肌醇 100mg L<sup>-1</sup>,0.6%琼脂固化),附加NAA 2mg L<sup>-1</sup>、KT 1mg L<sup>-1</sup>。转代几次后再挑选脆绿的愈伤组织转移到附加NAA 1mg L<sup>-1</sup>、KT 0.5mg L<sup>-1</sup>的改良MS液体培养基中振荡培养,26±1℃,转速80xg。转代时用筛网滤去大的细胞团。连续换液6次的悬浮材料供本实验用。当悬浮愈伤组织处于静止期时,再在原培养液中稳定一段时间(饥饿处理)。让全部细胞都处于停止分裂状态后,取材并转入新鲜培养基。以后间隔取材,在无菌条件下,用长吸管从三角瓶中取适量细胞团置含预冷的2.5%戊二醛固定液的小玻璃瓶中,随后倾去原固定液,更换新的2.5%戊二醛固定液,于冰箱(4-6℃)中固定4h。缓冲液洗涤后,用1%锇酸固定2h,洗涤后按电镜样品常规制备方法进行脱水、渗透、包埋。包埋块先于LKB 11800型锥形切片片机修块、切片,经光镜检查选择适当部位后,在LKB 2088V型超薄切片机上切片。醋酸铀-柠檬酸铅双染。观察摄影用JEM-100CX II型

和日立 HU-12A 型透射电镜。

## 2 观察结果

### 2.1 处于静止饥饿状态下的愈伤组织细胞中叶绿体的超微结构

处于静止饥饿状态下的愈伤组织细胞呈薄壁细胞状态,高度液泡化,细胞质位于细胞边缘。成熟的叶绿体沿细胞壁排列,长椭圆形,外由双层被膜包围,内部有许多与叶绿体长轴近似平行排列的基粒片层和基质片层,基质中含有嗜锇小体(图版 I:1)。从结构上看,这些叶绿体结构完整,其内膜系统的发育程度接近成熟叶片的叶绿体<sup>[7]</sup>,因而具有正常的光合作用功能。在这些细胞中,其它细胞质很少,细胞质仅有一薄层位于细胞边缘。表明细胞处于相对静止状态。

### 2.2 细胞分裂诱导过程中,细胞的超微结构变化及叶绿体的脱分化

将上述处于相对静止状态的细胞转入新鲜培养基培养 1-2d,其细胞及叶绿体的结构没有明显改变。培养 3d 后,细胞的大部分空间虽然仍为一大中央液泡所占据,但可观察到细胞质增加,特别是核糖体增多。叶绿体发生了明显的结构变化,类囊体膨胀或解体。有的退化叶绿体中出现髓鞘样结构(图版 I: 2,3)。在观察中发现,不同叶绿体的超微结构变化并不完全相同,有的叶绿体内膜系统已发生明显的退化或解体,有的则含有较少但正常的内膜系统。

培养 5d 后,周围细胞质进一步增加,向细胞中央扩展,并与对侧的细胞质联系,将液泡分隔。在此过程中,细胞核和一些细胞器向细胞中央迁移(图版 I: 5)。叶绿体的变化比较复杂,不同叶绿体的变化不同。这不仅表现在同一愈伤组织块的不同细胞中,即使同一细胞的不同叶绿体的变化也不完全相同。有的叶绿体的内膜系统完全退化解体,有的积累淀粉甚至为淀粉粒充塞,有的则含有通常少量但正常的内膜系统(图版 I: 4-6, 图版 II: 8,10,11)。细胞中除含有上述形态结构各异的质体外,尚有一些原质体(图版 I: 4,6, 图版 II: 8,11)。因此,这一时期叶绿体大多已失去其典型的构造,转化为其它类型的质体,主要为淀粉体和原质体。叶绿体变化的另一特点是呈分裂状态,可见叶绿体的不均等缢缩分裂,即叶绿体在缢痕两端体积不等,片层结构分配不均等,甚至片层结构的排列方向也不相同(图版 I: 7)。有些缢缩分裂的叶绿体的内膜系统已退化解体(图版 II: 9)。有类似出芽的增殖方式(图版 II: 11)。这些现象说明叶绿体的脱分化不仅可以通过片层结构解体,也可通过叶绿体的分裂特别是不均等分裂使其片层结构减少而实现。

在细胞分裂诱导过程中,细胞的超微结构也发生了剧烈变化。液泡中出现一些圆球形的电子致密体。朱至清等<sup>[8]</sup>证实菸草叶外植体脱分化细胞中的球形电子致密体为一种蛋白体,并认为液泡蛋白体的出现是细胞开始脱分化的标志之一。在细胞质中或液泡中出现一种由数圈光滑膜盘绕而成的膜状结构(图版 I: 5,6,图版 II: 8)。这种复合膜状结构可包围以核糖体为主的部分细胞质成分(图版 I: 5)。另外还存在由单层膜包围部分核糖体而成的囊泡结构(图版 II: 8)。芥菜减数分裂的大孢子细胞质中也存在这两种结构,其中富含酸性磷酸酶,故认为具自噬泡的功能<sup>[9]</sup>。此外,线粒体的数量明显增多,且内嵴发达。核糖体增多,有些聚集成簇,呈多聚核糖体存在状态(图版 I: 4,6),表明细胞的 rRNA、蛋白质合成活跃。

在细胞开始分裂时,观察有的细胞核分裂以所谓“劈裂式”<sup>[4]</sup>无丝分裂方式进行。核进行劈裂时,核膜发生内隔。根据切片分析,核膜内隔大致是沿细胞核中线,先在中部和两端进行(图版 II: 10)。在内隔部位可见许多类似微管的小管状结构(图版 II: 11, 实心箭头所示)。

### 2.3 分裂增殖细胞中质体的结构特点

培养 7d 时,在由静止细胞分裂而形成的细胞或细胞团中,质体呈原质体状态,在浓厚的基质中,含有电子致密的嗜锍小体和少量的膜状结构,无淀粉粒存在。这些分裂增殖细胞的主要特征是细胞质更为稠密,液泡小而少,高尔基体增多,呈活跃分泌状态,往往在一个细胞断面上可见 8-10 组高尔基体(图版 II: 12,13)。

### 2.4 停止分裂的细胞在成熟过程中叶绿体的再形成

在细胞停止分裂后的成熟过程中,细胞体积增大,细胞质减少,液泡变大。细胞逐渐回复到高度液泡化的薄壁细胞状态。这时质体出现片层结构的重建,培养 20d 的愈伤组织细胞中的叶绿体,其中含有少量正常的内膜系统,且有基粒片层和基质片层的分化(图版 II: 14)。基质中含有大量的核糖体,说明叶绿体再形成时,叶绿体中的蛋白质合成活跃。

上述每一个时期中,细胞和叶绿体各有其主要特征。就培养时间而论,其变化并不完全同步。分裂增殖期与愈伤组织成熟期(细胞体积增大,中央液泡形成)有时会混杂发生,分裂诱导也会在分裂期出现。故很难依照培养时间来严格划分其时期。但就某个细胞而言,则可依据其超微结构特征来判断其所处的状态。

## 3 讨论

### 3.1 停止分裂且高度液泡化的愈伤组织细胞回复到分生状态时细胞超微结构的变化

“脱分化”一词已在植物组织培养研究中广泛应用。但在不同文献中对脱分化所包含的内容的解释有很大差异,往往造成概念上的混乱和研究结果的不可比性。故我们在讨论本文结果之前,有必要对这一重要概念先进行讨论。Bhojwani 等<sup>[5]</sup>认为脱分化是“成熟细胞回复到分生状态并形成未分化的愈伤组织的现象”。《植物生理学通讯》1983 年第 4 期刊载的名词解释中对脱分化定义为“植物离体的器官、组织或细胞在人工培养基上经过多次细胞分裂而失去原来的分化状态,形成无结构的愈伤组织或细胞团”的过程。上述关于细胞脱分化的定义均包括了分裂诱导和分裂期。王凯基等<sup>[1]</sup>则认为脱分化是分化细胞逐步失去原有的分化状态转变为具分生能力的胚性细胞的过程。他们认为对每一个细胞来说,由已分化的细胞转变为合成代谢旺盛的胚性细胞是脱分化的结果,而不是多次细胞分裂的结果导致细胞脱分化。从本实验的观察结果来看,启动、脱分化细胞与脱分化细胞分裂产生的细胞在超微结构上是有明显差异的。将愈伤组织的形成与脱分化等同起来,或将愈伤组织细胞与脱分化细胞或未分化细胞等同起来是不合适的。因此我们倾向于王凯基等提出的观点。根据目前关于脱分化的研究结果,我们认为细胞脱分化应指已具有一定结构和功能的分化和成熟细胞,在一定的培养条件下,其结构和功能发生根本的改变,细胞回复到具分裂能力或具潜在分化能力的分生状态的过程。细胞分裂开始,意味着脱分化过程结束。脱分化细

胞或反复分裂产生愈伤组织,或不经愈伤组织而直接分化出器官、体胚等均属于分化的内容。故而在细胞脱分化的同时,实际上已酝酿着新的分化。王凯基等<sup>[1]</sup>亦认为细胞的反复分裂,特别是RNA含量下降似乎是细胞走向分化的开始。许多文献往往未把形成愈伤组织归于分化,这是不全面的。因为即使愈伤组织仍处于薄壁细胞状态尚未分化出其它特化细胞,但细胞内各种细胞器的发展、次生产物的积累等均是细胞分化的重要方面<sup>[13]</sup>。更何况愈伤组织形成的本身就有组织分化的内容<sup>[14]</sup>。

许多研究者从不同方面对细胞脱分化进行了研究。对脱分化细胞的特征取得了一些共识。如细胞脱分化时细胞质迅速生长并向中央液泡伸出细胞质丝,液泡中出现电子致密的蛋白体<sup>[3]</sup>,光合能力丧失<sup>[12]</sup>,叶绿体脱分化为原质体<sup>[2]</sup>,劈裂式的无丝分裂方式<sup>[5,8]</sup>等。甜菊停止分裂的愈伤组织细胞生长在有助于增殖的培养基中,细胞首先发生一系列变化以获得分生状态,呈现典型的脱分化结构特征。以往的研究较少注意到细胞脱分化时通过何种方式来实现其结构与功能的调整。这一过程必然包括了细胞非功能组分的降解和功能组分的合成。我们的观察表明,在细胞脱分化过程中,出现一些特殊的自噬结构包围部分细胞质基质和核糖体。推测一些非功能所需的细胞质基质和核糖体可通过自体吞噬作用而降解。不过尚需用细胞化学方法加以验证。

### 3.2 在细胞脱分化过程中叶绿体的脱分化和原质体的发生

植物叶肉细胞和含正常叶绿体的绿色愈伤组织细胞一旦转入适合增殖的培养基上,其中的叶绿体发生脱分化失去其光合片层,最后形成原质体。这是在组织培养中出现的普遍现象。但对叶绿体的脱分化过程、诱导因子、调控机理及原质体发生等问题至今尚未完全阐明。Sjolund等<sup>[17]</sup>发现由继代培养诱导的高度液泡化细胞的脱分化与其细胞中叶绿体的脱分化是平行的。Harikrishna等<sup>[12]</sup>观察到机械分离的石刁柏叶肉细胞在脱分化过程中,细胞分裂的启动与细胞光合能力的丧失有非常密切的关系。在甜菊愈伤组织中的一些薄壁细胞脱分化时,叶绿体呈现复杂的变化,且不同叶绿体的超微结构变化不完全相同。主要表现在:(1)类囊体膨胀、解体,首先发生解体的似乎是基质类囊体;(2)一些叶绿体积累淀粉;(3)叶绿体因分裂而体积减小;(4)叶绿体由原来靠细胞壁分布变为大多靠细胞核分布。叶绿体变化的一个总的趋势是内膜系统逐渐减少甚至消失,体积减小,最后回复到原质体状态。那么,在细胞脱分化过程中,是什么因素引起叶绿体脱分化?Vannini等<sup>[19]</sup>(及见该文后的引文)发现在培养基中添加乙酸、葡萄糖等碳源可诱导单细胞眼虫藻中叶绿体退化。近年来的研究表明,叶绿体的DNA只能为10%左右的自身蛋白质编码,大部分蛋白质是由细胞核编码和在细胞质核糖体上合成并经翻译后加工机理进入叶绿体装配而成<sup>[10]</sup>。可见细胞质中的叶绿体蛋白质合成对叶绿体的状态有重要影响。Scheer等<sup>[15]</sup>认为叶绿体脱分化主要受核质蛋白质合成系统的控制,因细胞质的叶绿体组分生物合成停滞而导致叶绿体脱分化,抑制细胞分裂可抑制叶绿体脱分化。Harikrishna等<sup>[12]</sup>发现石刁柏叶肉细胞脱分化时总rRNA增加,而叶绿体rRNA丧失。说明在细胞脱分化时叶绿体自身的蛋白质合成可能也因其核糖体被破坏而受阻。本文的结果也表明叶绿体脱分化时,其中的核糖体减少或消失。由此可见,细胞脱分化启动细胞分裂导致叶绿体片层结构逐渐丧失最后脱分化回复到原质体状态,一方面是

因叶绿体组分(包括来自细胞质合成和叶绿体自身合成的)的生物合成受阻;另一方面是叶绿体组分降解加上因分裂而稀释。而这一切可能是为了保证细胞脱分化时新的细胞质成分迅速合成所需的物质的供应。随着细胞质合成速度的下降,质体有利于竞争细胞质中的成分而重新合成其膜系结构。我们注意到叶绿体的脱分化过程与衰老叶片中叶绿体的行为不同<sup>[7]</sup>。关于叶绿体蛋白的降解,过去一般认为是通过自体吞噬即由液泡中的水解酶水解实现的<sup>[11]</sup>。现在则倾向于认为叶绿体含有自己特有的蛋白水解系统,其中一些蛋白水解酶的活性依赖 ATP<sup>[20]</sup>。这与我们观察到的甜菊衰老叶片叶绿体出现 ATPase 水解活性的结果是相符的<sup>[7]</sup>。在细胞脱分化过程中,我们也未观察到叶绿体与自体吞噬的联系,其内膜系统和基质的降解方式还有待进一步研究。

### 参考文献

- 1 王凯基, 张丕方, 倪德祥等. 几种木本植物组织培养的愈伤组织形成和器官再生. 植物学报, 1981, 23:97-103
- 2 朱至清, 孙敬三, 李守全. 烟草离体叶肉细胞中原质体的发生. 植物学报, 1982, 24:199-203
- 3 朱至清, 孙敬三, 李守全等. 烟草叶片外植体脱分化细胞中的蛋白体. 植物学报, 1984, 26:126-129
- 4 孙敬三, 朱至清, 李守全. 小麦离体花药中花粉核无丝分裂的电子显微镜观察. 实验生物学报, 1984, 17:281-289
- 5 陆文梁. 离体培养中胡萝卜细胞脱分化状态下无丝分裂的活体连续观察. 中国科学(B辑), 1983, 4:321-326
- 6 欧阳学智, 洪维廉, 陈陆传等. 甜菊叶愈伤组织诱导过程中叶绿体的超微结构变化. 武汉植物学研究, 1993, 11:61-66
- 7 欧阳学智, 谢绍萍. 甜菊不同叶龄叶片细胞 ATPase 活性的定位. 中山大学学报(自然科学版), 1991, 30(3):131-134
- 8 桂耀林, 顾淑荣, 徐廷玉. 竹节海棠叶外植体脱分化启动的细胞学观察. 武汉植物学研究, 1986, 4:13-16
- 9 Bhojwani S S, Razdan M K. Plant Tissue Culture: Theory and Practice. Elsevier Science Publishing Company INC, 1983, 71-90
- 10 Chua N H, Schmidt G W. Transport of protein into mitochondria and chloroplasts. J Cell Biol, 1979, 81:461-483
- 11 Dalling M J, Nettleton A M. Chloroplast senescence and proteolytic enzymes. Plant Proteolytic Enzymes, 1986, 2:125-153
- 12 Harikrishna K, Darby R, Draper J. Chloroplast dedifferentiation in mechanically isolated *Asparagus* cells during culture initiation. Plant Physiol, 1992, 100:1177-1183
- 13 Lindsey K, Yeoman M M. The relationship between growth rate, differentiation and alkaloid accumulation in cell cultures. J Exp Bot, 1983, 34:1055-1065
- 14 Murashige T. Plant propagation through tissue cultures. Ann Rev Plant Physiol, 1974, 25:135-165
- 15 Scheer A, Parthier B. Dark induced chloroplast dedifferentiation in *Euglena gracilis*. Planta, 1982, 156:274-281
- 16 Schulz P, Jensen W A. Prefertilization ovule development in *Capsella*: Ultrastructure and ultracytochemical localization of acid phosphatase in the meiocyte. Protoplasma, 1981, 107:27-45
- 17 Sjolund R D, Weier T E. An ultrastructural study of chloroplast structure and dedifferentiation in tissue cultures of *Streptanthus tortuosus* (Cruciferae). Amer J Bot, 1971, 58:172-181
- 18 Steward F C. Totipotency, variation and clonal development of cultured cells. Endeavour, 1970, 23:117-124

- 19 Vannini G L. Degeneration and regeneration of chloroplasts in *Euglena gracilis* grown in the presence of acetate: ultrastructural evidence. *J Cell Sci*, 1983, 61:413-422
- 20 Vicarstra R D. Protein degradation in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, 44:385-410

## 图版说明

Cw — 细胞壁; D — 高尔基体; M — 线粒体; N — 细胞核; Nu — 核仁;  
P — 质体; PP — 原质体; S — 淀粉粒; V — 液泡

## 图版 I

1. 培养 35d 的愈伤组织细胞中的叶绿体, 含有充分发育的内膜系统; ×24500
2. 转移到新鲜培养基上培养 3d 时, 示叶绿体片层结构退化。注意髓鞘样结构形成(箭头); ×21000
3. 与图 2 培养时间相同, 示光合片层的退化及细胞质中高的核糖体密度; ×25200
- 4-7. 转移至新鲜培养基 5d 时细胞和质体的超微结构。
4. 数个具淀粉的质体位于细胞核附近, 可见明显的原质体存在; ×14000
5. 示脱分化细胞中的细胞质延伸, 多重膜复合体(箭头)和液泡内含物; ×10080
6. 电子致密体和多重膜复合体出现在液泡中。邻近的细胞(位于上部)具大的细胞核、液泡化核仁及高的细胞质密度; ×5800
7. 不均等缢缩的叶绿体。注意缢缩的位置不在中央, 且其内囊体系统在子叶绿体分离之前已不均等分开。邻近的质体只含少量片层; ×9350

## 图版 II

- 8-11. 转移至新鲜培养基 5d 时, 细胞和质体的超微结构。
8. 脱分化细胞中的多重膜复合体、单膜液泡和原质体; ×19000
9. 含有已退化的内膜系统的质体的分裂图象; ×20000
10. 示细胞核的劈裂式无丝分裂, 箭头示核膜内陷。许多质体(位于伸展的细胞质中)含一至数个淀粉粒; ×5400
11. 图 10 的高倍放大, 示劈裂式无丝分裂细节。空心箭头示具芽状突起的质体; ×12960
12. 培养 7d 时细胞的超微结构。细胞几乎被细胞质充满, 富含高尔基体、线粒体和内质网。原质体含一些残存的膜和嗜锇颗粒, 细胞核形状不规则; ×8920
13. 与图 12 所示的培养时间相同, 更清楚地显示原质体在其致密的基质中只含少量内膜和一些嗜锇颗粒。邻近的高尔基体呈活跃分泌状态; ×37900
14. 转移至新鲜培养基培养 20d 时, 叶绿体含有少量明显的基粒-基质片层。 ×23840

## Explanation of plates

Cw — Cell wall; D — Dictyosome; M — Mitochondrion; N — Nucleus; Nu — Nucleolus;  
P — Plastid; PP — Proplastid; S — Starch grain; V — Vacuole.

## Plate I

1. Chloroplast from 35-day-old culture contains well-developed internal membranes resembling those of a typical higher plant chloroplast; ×24500

2. Chloroplast from 3-day-old culture transferred to fresh culture medium, showing the degeneration of lamellae. Note the myelin-like structure formation (arrow);  $\times 21000$
3. Cells of the same culture phase as that of Fig. 2, showing the degeneration of photosynthetic lamellae and the high ribosome density of the cytoplasm;  $\times 25200$
- 4-7. Ultrastructure of cells and plastids from 5-day old cultures transferred to fresh culture medium.
4. Several plastids with starch are located in the vicinity of a nucleus. A well defined proplastid is also present;  $\times 14000$
5. Showing cytoplasmic extensions, multiple membranous circles and vacuolar inclusions in dedifferentiating cells;  $\times 10080$
6. Electron-dense bodies and multiple membranous circles (arrow) occur within the vacuole. Neighbouring cell (at the upper part) has a large nucleus, vacuolate nucleolus and a high cytoplasmic density;  $\times 5800$
7. A chloroplast of unequal constriction. Note that the constriction is not centrally positioned and the thylakoid systems unequally separate before the separation of daughter chloroplasts. Neighbouring plastid contain only a few lamellae;  $\times 9350$

**Plate II**

- 8-11. Ultrastructure of cells and plastids from 5-day-old cultures transferred to fresh culture medium.
8. Multiple membranous circles, single membranous cisterna and proplastids in a dedifferentiating cell;  $\times 19000$
9. A dividing figure of plastid contains degenerated internal membranes;  $\times 20000$
10. Showing nuclear division by cleavage amitosis. Arrows indicate the invaginations of nuclear membrane. Many plastids contain one to several large starch grains;  $\times 5400$
11. A higher magnification view of Fig.10, showing detail of the cleavage amitosis (arrows). Hollowarrow shows plastid with bud-like protrusion;  $\times 12960$
12. Ultrastructure of cells after 7-days of culture. The cells are nearly filled with cytoplasm, rich in dictyosomes, mitochondria and endoplasmic reticulum. The proplastids contain rudimentary membranes and osmiophilic particles. The nucleus is irregular in shape;  $\times 8920$
13. Detail of proplastid of the same culture stage as that of Fig. 12, only very few membranes and some osmiophilic particles are present in a dense stroma. Neighbouring dictyosome is active in emitting vesicles;  $\times 37900$
14. Developing chloroplast from 20-day-old culture transferred to fresh culture medium, contains a few defined granal-intergranal lamellae.  $\times 23840$