

# 不同含油量文冠果种子扫描电镜显微结构观察

郭 维,李佳兴,岳 妍,李琳琳,金 华

(大连民族大学 环境与资源学院,辽宁 大连 116600)

**摘要:**为研究含油量差异较大的文冠果种子与其显微结构间的关系。选取不同地区的文冠果种子,利用扫描电镜观测油体亚显微结构,测定不同地区文冠果种子含油量,分析种子含油量与油体亚显微结构的关系。结果表明:对文冠果种子扫描电镜切片的操作进行了优化,确定了梯度乙醇脱水时间 20 min 为宜。电镜下文冠果种子油体多呈现为圆形或者椭圆形,大小不一。不同地区品种的文冠果种子含油量差异较大,种子含油量与油体数目呈现正相关的关系,即含油量相对较多的文冠果种子油体数量更多、密集,反之含油量稀少的文冠果种子油体数量少、稀疏。

**关键词:**文冠果;油体;含油量;扫描电镜

**中图分类号:**S793.9;Q246 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)10-0092-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.10.0092

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge),为无患子科文冠果属,其抗逆能力极强,是一种我国北方特有的优质木本油料树种,具有极高的工业经济价值<sup>[1]</sup>。文冠果的油脂主要存在于种仁中,其含油量可达 50% 以上<sup>[2]</sup>。油体是植物细胞中最小的细胞器,不管在细胞中还是在离体条件下,油体结构都非常稳定,甚至经过长时间的贮藏也能保持一定的稳定<sup>[3-4]</sup>。

文冠果种子油适宜制备生物柴油,已被国家科技部列为最主要的燃料油植物种质资源之一<sup>[6]</sup>。在种子发育过程中,可溶性糖和淀粉呈现出与油脂积累相反的积累模式<sup>[7]</sup>。蛋白质积累呈现出与油脂积累相似的积累模式,油脂含量与蛋白质含量呈正相关<sup>[8]</sup>。不同植物种子的油脂积累时期是有差异的<sup>[9]</sup>。文冠果种子油在种子发育的较晚时期积累,累积时间长达 28 d<sup>[10]</sup>。目前在文冠果的科学研究中研究含油量的较多,而对油体亚显微结构研究的较少,本研究利用扫描电镜观测油体与含油量的关系。以期为油体形成研究提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料于 2015 年 9 月 20 日采自大连后

盐、新疆奇台、江苏沐阳、内蒙古赤峰等地的文冠果成熟的种子。试验所用仪器为 SFT-110 型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取仪、日立 S-4800 扫描电子显微镜。

### 1.2 方法

试验于 2016 年在大连民族大学植物逆境生理学实验室进行。选择外表光亮、饱满成熟、大小均匀、外观特征接近,质量相近的种子进行实验。

**1.2.1 种子含油量测定** SFT-110 型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取,旋开萃取釜上口螺丝,放入物料包,水平拧紧螺丝。关闭动静态阀和背压阀,打开钢瓶阀,打开 CO<sub>2</sub> 泵开关,PSI 灯闪烁下压力显示 800-900PSI,打开 CO<sub>2</sub> 泵制冷开关。根据需要选择动态或静态萃取模式和萃取时间。链接接收瓶,缓慢交替打开阀门收集产品,关闭加热器和各阀门,取出物料,清理装置和设备,关闭电源。根据公式:出油率=种子含油量/种子干重。测量的种子重量统均为 26.89 g。

**1.2.2 扫描电镜** 文冠果种子人工去壳,将去壳后的种子用手术刀片切成 1 mm<sup>3</sup> 的小薄块,同地区种子取 3 颗,每个种子选取相同位置切 5 片置于 2.5% 戊二醛液中固定,室温固定 4 h 后,再用 0.1 mol pH7.2 的 PBS 缓冲液冲洗 4 次,接着利用 30%,50%,70%,80%,90%,95%,100% 乙醇逐级脱水,每个梯度 10、20、30 和 40 min 四个处理进行脱水后,经醋酸异戊酯置换 30 min,再用 CO<sub>2</sub> 临界点干燥仪干燥。将干燥好的文冠果种子切片进行离子溅射法喷金,时间约 30 min,然后在扫描电镜中装入样品,将样品托装入样品座,用标尺确定高度后扭紧按仪器要求观察并照相。

收稿日期:2016-08-26

基金项目:中央高校基本科研业务费资助项目(DC 201502070403);大连民族大学大学生创新创业资助项目(XA201612344;XA201612323)

第一作者简介:郭维(1994-),男,辽宁省葫芦岛市人,在读学士,从事油料植物种子的油体研究。

通讯作者:李琳琳(1983-),女,辽宁省营口市人,博士,讲师,从事植物逆境与分子生物学研究。E-mail: lilinlin@dlnu.edu.cn。

## 2 结果与分析

### 2.1 文冠果种子含油量分析

由表 1 看出,产地不同,其含油量不同,产于大连后盐的文冠果种子与新疆奇台文冠果种子含油量较其它省区的都高,说明二者都属于含油量较高的种子,文冠果种子大小和含油量在不同产地差异较大。

表 1 不同地区文冠果种子含油量

Table 1 The oil content <i>Xanthoceras sorbifolia</i> Bunge seed of from different area	
产地 Producing area	含油量/% Oil content
新疆奇台 Qitai of Xinjiang	38.25
江苏沐阳 Muyang of Jiangsu	20.86
新疆麦盖提 Maigaiti of Xinjiang	32.03
辽宁阜新 Fuxin of Liaoning	33.74
大连后盐 Houyan of Dalian	36.03
内蒙古赤峰 Chifeng of Inner Mongolia	33.09

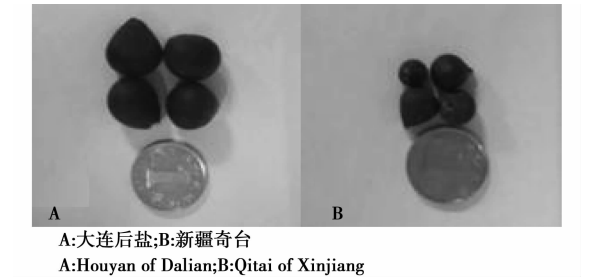


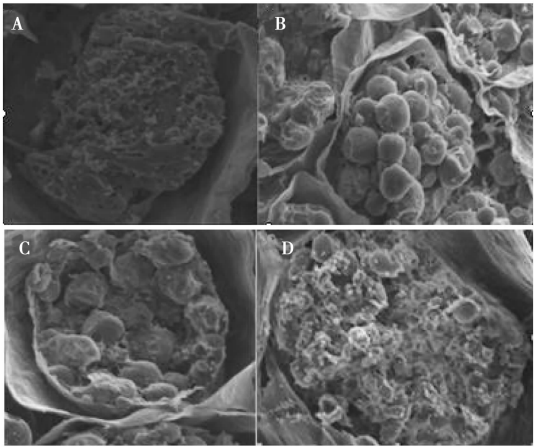
图 1 大连后盐和新疆奇台文冠果种子  
Fig. 1 The *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed of Houyan of Dalian and Qitai of Xinjiang

### 2.2 筛选最佳脱水时间

对新疆奇台文冠果种子不同乙醇脱水的时间进行了比较,经过对比分析可知,乙醇脱水效果很强,乙醇脱水 10 min 时间较短,在电镜下观测油体不明显(见图 2A),40 min 时间显然已经长了(见图 2D),而 20 min 下油体形状清晰可见(见图 2),扫描电镜下的油体观测效果更好(见图 2B)。最佳脱水时间应每个梯度 20 min 为宜。

### 2.3 文冠果种子的油体观察

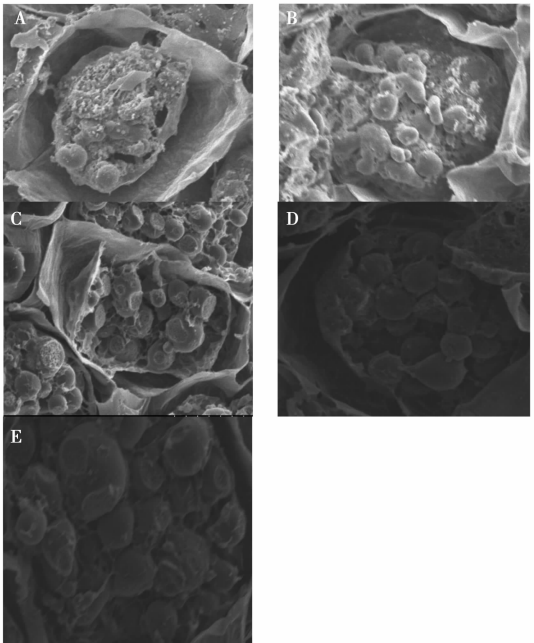
如图 3 所示,油体放大 4 000 倍(见图 3E)不能看到一个完整细胞中油体分布和数量情况,不方便分析和计算,因此选择放大 2 500 为宜(图 3 A、B、C、D)。前文描述含油量最少的江苏沐阳文冠果种子,如图 3A 所示其细胞中油体较少只含有 8 个,且油体的大小不一,体积相差较大。含油



A、B、C、D 图分别为脱水 10、20、30、40 min  
A:dehydrated for 10 min (×2 500); B:dehydrated for 20 min (×2 500); C:dehydrated for 30 min (×2 500); D:dehydrated for 40 min (×2 500)

图 2 新疆奇台文冠果种子在不同脱水时间条件下油体显微观察

Fig. 2 The SEM pictures of oil body of Qitai Xinjiang at different dehydration time



A:江苏沐阳文冠果种子(2500 倍);B:内蒙赤峰文冠果种子(2 500 倍);C:大连后盐文冠果种子(2 500 倍);D:新疆奇台文冠果种子(2 500 倍);E:新疆奇台文冠果种子(4 000 倍)  
A: Muyang Jiangsu (×2 500); B: Chifeng Neimenggu (×2 500); C: Houyan Dalian (×2 500); D: Qitai Xinjiang (×2 500); E: Qitai Xinjiang (×4 000)

图 3 不同地区文冠果油体扫描电镜观察

Fig. 3 The SEM pictures of oil body form different producing area at the same dehydration time

量其次是内蒙赤峰的文冠果种子,其细胞中油体数量明显增多(见图 3B),第三是大连后盐的文冠果种子,其细胞中油体数量可达数十个甚至上百个,且油体体积相差不明显(见图 3C)。出油率最高的新疆奇台文冠果种子(见图 3D),其细胞中油体数量和油体体积与大连后盐文冠果种子基本一致,但是每个油体形状较为饱满,该产地文冠果种子不仅含油量高,出油率也高。

由此可见,出油率越多的文冠果种子,油体数目更多且在细胞中排列紧密集中,油体体积相差较小,油体更加饱满。

### 3 结论与讨论

试验针对多种不同地区文冠果种子的含油量进行比较分析,筛选出 6 个不同地区文冠果种子,根据实验已有数据以及公式计算出油率<sup>[11]</sup>。数据显示,不同种植地区的文冠果种子含油量存在较为明显的差异(见表 1),而大连后盐的文冠果种子与新疆奇台文冠果种子相比,二者都属于含油量较高的种子,但前者种子体积较大。那么文冠果的大小、含油量与其油体关系尚不得而知。经过测定含油量可以看出新疆奇台文冠果种子含油量最高,而江苏沐阳文冠果种子含油量最低。由电镜图片可以看出,油体多呈球形和椭球形,像人体细胞一样,但大小不等,在细胞中排列紧密且集中。本试验中含油量高的品种(大连后盐的文冠果种子),在种子的每个细胞中,油体数量多且分布密集,许多小油体聚集在一起形成较大的油体密集区域,分布在种子细胞中。而本试验含油量低的品种(江苏沐阳的文冠果种子),通过对其

亚显微结构的观察可以得知,在细胞中油体的数量较少,其数量明显小于含油量高的品种,但大油体数目较多,且周围的小油体也不聚集。关于这些观察到的差异油体的蛋白体需要进一步研究确定其与油体形成的关系。

### 参考文献:

- [1] 郭惠红,李凤兰.文冠果种子发育过程中油脂积累规律研究[J].北京林业大学,2010,5(12):13-28.
- [2] 张圣平,刘世琦,谷卫刚,等.菜用大豆荚果发育过程中主要营养组分的变化[J].山东农业大学学报,2005,36(1):97-100.
- [3] 刘昱辉,贾士荣.植物油体表达体系的研究进展[J].农业生物技术,2003,11(5):531-537.
- [4] 代柳亭.不同含油量甘蓝型油菜种子油脂分布、生理生化特性以及化学调控的研究[D].重庆:西南大学,2008,16(5):121-130.
- [5] 牟洪香.木本能源植物文冠果(*Xanthoceras sothifolia* Bunge)的调查研究[J].北京:中国林业科学研究院,2006,25(5):32-39.
- [6] 韦存虚,钦风凌,李爱民,等.油菜种子油体的观察和大小分析[J].中国油料作物学报,2009,31(4):445-448.
- [7] Nykiforuk C L. Liquid-Liquid phase separation of oil bodies from seeds[J]. Methods in molecular biology(Clifton, N. J.), 2016, 13(85):73-88.
- [8] 傅寿仲,张洁夫,戚存扣,等.甘蓝型油菜高含油量种质选育研巧[J].中国油料作物学报,2008,30(2):279-283.
- [9] 赵传志,卢金东,苏磊,等.以油体作为生物反应器的研究进展[J].生物技术通报,2008,9(2):73-76.
- [10] 程红焱,宋松泉.种子的贮油细胞器:油体及其蛋白[J].植物学通报,2006,23(12):418-430.
- [11] 董劲松,石东乔,高建芹,等.甘蓝型油菜油体数量及面积之和与含油量的相关性[J].植物学报,2012,44(2):79-85.

## Microstructure Observation of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge Seed with Different Oil Content by Scanning Electron Microscope

GUO Wei, LI Jia-xing, YUE Yan, LI Lin-lin, JIN Hua

(College of Environment and Bioresources, Dalian Minzu University Dalian, Liaoning 116600)

**Abstract:** In order to research the relationship between crown fruit seed and its microstructure of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge, taking *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seeds as materials, their oil content from several regions were explored, and the relationship between the number of oil bodies and oil content were analyzed by SEM (scanning electron microscope). The results showed that operation of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed scanning electron microscope specimen was optimized, the slices produced the best dehydration time for each level of ethanol dehydration to 20 min. Under electron microscope body oil showed round or oval in shape and size. And the difference between varieties in different regions of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge seed oil content was larger. Oil content was positively related with the number of oil bodies, in other words, the more oil bodies, the richer and more intensive oil content of seed, and the less oil bodies, the smaller and thinner oil bodies.

**Keywords:** *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; oil body; oil content; scanning electron microscope