

玉米种子萌发过程幼叶细胞中淀粉粒的积累观察

陈健辉, 方 璟*

(广州大学生物与化学工程学院生物系, 广东广州 510405)

摘 要: 研究玉米萌发初期幼叶的发育。在幼叶不同的发育时期, 分别用PAS反应, 考马氏蓝处理不同叶片, 结果发现: 叶片细胞内的叶绿体在叶片即将抽出时才形成; 从浸种萌动到叶片进行光合作用前, 植株的营养供给, 主要靠叶片自身淀粉粒的积聚提供; 在幼叶抽出以前, 胚芽鞘的薄壁细胞中布满淀粉粒, 随着叶片的发育, 这些淀粉粒逐渐减少; 而幼叶中的淀粉粒的变化情况正好相反: 在种子萌发初期, 幼叶细胞内只有少量的淀粉粒, 以后淀粉粒的积累逐渐增多; 在这个阶段无蛋白质的积累。幼叶中维管束的发生是先中间后两边, 维管束中的韧皮部先形成, 木质部后发生。

关键词: 玉米; 叶片; 淀粉粒; 积聚

中图分类号: S667 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)05-0440-05

Observation of the starch grain accumulating in the tender leaf blades cells during the initial germination stage of maize (*Zea mays*) seeds

CHEN Jian-hui, FANG Jing

(Dept. of Biology, School of Biology & Chemistry Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510405, China)

Abstract: This study concerned the development of the leaf blades during the initial germination stage of maize (*Zea mays* L.) seeds. In the different development stages of the leaf blades, they were treated by the PAS reaction and the Coomassie brilliant blue reaction. The results showed that the chloroplast had not formed before the leaf blades drew out. During the seed in bud to the leaf blades being photosynthesis, nutrition supply for the leaf blades growing using the starch grain accumulation by itself. Before the tender leaf blades extended, the parenchyma cells of the coleoptile had an abundant starch grain, but as the leaf blades develop, the starch grain became less. In the tender leaf blades itself, the situation was the reverse; during the initial germination period of the seed, starch grain was only a limited amount, but later, the starch grain accumulates gradually. In this time the protein had not accumulated. In the tender leaf blades the vascular bundle occurred firstly in the middle of the leaf blades, and then in the edges of the leaf blades, and the phloem occurred earlier than that of the xylem.

Key words: maize; leaf blades; starch grain; accumulation

玉米是我国重要的粮食作物, 其叶脉发育在单子叶植物中具有一定的代表性。其种子在发育过程中, 幼叶中导管的发生和叶脉的形成有一定的规律性; 同时细胞内淀粉粒的积累具有一个动态变化过

程, 这与叶脉的形成有一定的相关性。关于这方面的研究, 目前尚未见报道, 本文对玉米种子萌发初期叶脉发生及叶片细胞内的淀粉粒的动态变化进行研究, 以了解在叶片发育过程中淀粉粒积聚的规律性,

收稿日期: 2002-09-05 修订日期: 2003-01-20

作者简介: 陈健辉(1966-), 男, 广东广州人, 副教授, 植物形态学专业。* 现工作单位: 汕头市聿怀中学

为研究单子叶植物叶脉发育的规律提供一些新的参考依据。

1 材料与方法

实验用的材料为广州市种子所售的农宝牌金凤超甜玉米(*Zea mays* L.)。实验时先将籽粒用水浸泡 5 h, 随后放入 31 °C 的培养箱内发芽, 待胚芽鞘抽出后, 移植于地上栽培 1 周。在各个不同发育阶段随机挑选 10 颗(株)进行观察、制片、统计。待实验结束半个月后再重复实验 1 次。

测量材料在解剖镜下解剖、观察, 用游标尺度量, 计算平均值。

1.1 切片材料的制作

(1) 一般观察的制片用爱氏苏木精整体染色, 常规石蜡切片法切片, 切片厚度为 8 μm 。(2) 组织化学观察的制片用常规石蜡切片法切片, 切片厚度为 8 μm ; 分别用 PAS 反应、考马氏蓝染色(胡适宜等, 1992), 鉴定淀粉及蛋白质, Olympus 显微镜下观察、摄影。

1.2 透射电镜观察材料

取叶片中部材料, 用戊二醛—锇酸双重固定, 系列酒精脱水、环氧树脂包埋, 透射电镜观察拍摄。

2 观察结果

2.1 光镜下的观察结果

2.1.1 幼叶发育进程 玉米籽粒在浸种至幼叶发育阶段, 是比较活跃的发育进程, 形态结构上表现出明显的变化。大体可以划分为: 幼叶萌动期、胚芽外露期、幼叶发育期, 三者既连续又有区别。

(1) 幼叶萌动期: 此时种子开始萌动, 籽粒外观无明显变化。在叶枕附近作一横切, 可见叶枕上方: 顶端分生组织四周包围着大小不一的 4 片幼叶, 由外到内按从大到小顺序排列; 最外由胚芽鞘包围。胚芽鞘的细胞层数较多, 已有两团细胞出现分化, 但尚未形成维管束(图版 I-1); 从外到内的 4 片幼叶中, 外围的两片较大, 将来发育形成初生叶, 已形成 9~7、5~3 条叶脉, 这些叶脉的维管束已分化产生原生韧皮部, 并形成明显的薄壁细胞群, 在这些叶脉之间, 也产生特化的细胞群; 但尚未分化形成次一级叶脉; 仅由一团形状明显区别于周围细胞的薄壁细胞组成, 其外围具一圈鞘细胞。第三、四片幼叶将来

形成次生叶(真叶), 初期尚未分化形成导管(图版 I-2), 以后, 第三片幼叶逐渐发育形成 3 条叶脉(图版 I-3), 组成与上述的初生叶相同。中央为生长锥, 其横切面呈钝三角形至扁圆形。

(2) 胚芽外露期: 此时胚根已突破种皮, 并逐渐形成带侧根的主根; 胚芽鞘也突破种皮, 呈浅绿色。横切面结构可见胚芽鞘已形成 2 个半周木维管束(图版 I-4)。生长锥外具 4 片幼叶。两片初生叶已分别形成 11~9、9~7 条叶脉; 维管束的韧皮部先发生, 木质部后发生; 木质部具 1~2 条(少数具有 3 条)环纹导管, 其中中央维管束的近轴面形成较多、大的薄壁细胞。较大的一片次生叶(真叶)形成 7 条叶脉, 小的一片次生叶(真叶)形成 5 条叶脉; 生长锥的横切面呈钝三角形至圆形。

(3) 幼叶发育期: 此时胚芽抽出, 叶片逐渐展开; 当幼苗具 6 片叶后; 胚芽鞘停止发育, 但仍包裹在植株外围; 而两片初生叶已经抽出, 大的一片长 56.43~50.31 mm, 小的一片也已展开, 长 39.09~30.28 mm。第一片次生叶(真叶)呈淡绿色并展开, 长 16.91~13.23 mm。该叶的横切面观可以看见: 中脉区已形成, 整片叶具大小不等的 117 条叶脉, 其中 15 条较大, 并以左右对称形式分列。

幼苗叶片的输导组织分化的顺序是: 初生叶的先于胚芽鞘的; 胚芽鞘的先于次生叶(真叶)的。叶片中输导组织的分化是由中间向两边发展。导管、筛管的发生均在叶片抽出前形成。

2.1.2 幼叶在不同发育时期淀粉粒的分布

(1) 幼叶萌动期: 幼叶横切面材料经考马氏蓝染色后, 观察到将来发育成次生叶(真叶)的第三片幼叶的中央, 有的细胞含少量的蛋白质(图版 I-5); 其余叶片的细胞均无蛋白质。经 PAS 反应染色后, 在叶枕附近的细胞具较多、较大的淀粉粒, 而随着部位的逐步上(下)移, 细胞内的淀粉粒逐渐减少、变小。具体结果见表 1、2。

(2) 胚芽外露期: 材料经考马氏蓝染色后, 所有的叶片细胞均未观察到蛋白质。经 PAS 反应染色后, 胚芽鞘维管束周围的细胞数量增多、体积增大; 在维管束鞘内的部分细胞也具有淀粉粒。生长锥的情况同“幼叶萌动期”。其它已形成输导组织的部位, 其淀粉粒多出现在维管束周围的薄壁细胞; 未形成输导组织的位置, 细胞中淀粉粒较少或缺, 其余的见表 3。

(3) 幼叶发育期: 经 PAS 反应染色后, 胚芽鞘的

细胞含极少的淀粉粒;初生叶细胞的淀粉粒也减少(图版 I-10);次生叶(真叶)细胞的淀粉粒分布具有以下规律:叶下部细胞含的淀粉粒大且多;叶上部细胞含有的淀粉粒较少。先形成的次生叶(真叶)与

后形成的次生叶(真叶)相比:前者中脉区附近的细胞含的淀粉粒密度更高、颗粒更大(图版 I-11)。近边缘部位的细胞,淀粉粒密度较为稀疏(图版 I-12)。

表 1 幼叶未形成维管束时细胞中淀粉粒的分布

Table 1 The starch grain distributed in the cells before the tender leaf blades vascular bundle formed

胚芽鞘 Coleoptile	初生叶 Primary leaf	次生叶(真叶) Secondary leaf	生长点 Growing point
散布,较大。靠近形成维管束的薄壁细胞处含量稍少,远离形成维管束的薄壁细胞处含量稍多。表皮细胞无。	未形成维管束时各细胞无淀粉粒	表皮细胞及其下的几层细胞具少量淀粉粒(图版 I-6)	零星、散布

表 2 幼叶形成维管束后细胞中淀粉粒的分布

Table 2 The starch grain distributed in the cells after the tender leaf blades vascular bundle formed

观察细胞类别 Kinds of observed cells	胚芽鞘 Coleoptile	初生叶 Primary leaf	次生叶(真叶) Secondary leaf	生长点 Growing point
薄壁细胞 Parenchyma cells	散布,较大。靠近维管束的稍小,远离维管束的较大。	近下表皮多,近上表皮少;较大(叶片中央部先出现,两边后出现)	中央部位的多,边缘部位的少,大(图版 I-7)	零星、散布
叶脉间薄壁细胞 Parenchyma cells between the veins	—	较多,较大	较多,较大	无
叶片中央的细胞 The cells in the middle of the leaf blade	—	中部以上无;中部以下零星分布	中部以上零星分布;中部以下较多	无
近叶缘的细胞 The cells in the edge of the leaf blade	—	较少、较小	较少、较小	无
表皮细胞 Epidermal cells	无	极少、较小	极少、较小	无

表 3 胚芽外露期幼叶细胞内淀粉粒的分布情况

Table 3 The starch grain dispersed in the tender leaf blades cells during the plumule showing

观察细胞类别 Kinds of observed cells	初生叶 Primary leaf	第一片次生叶 First secondary leaf	第二片次生叶 Second secondary leaf
非主脉区的薄壁细胞 Parenchyma cells except the main veins	较多、较大	多、大	多、大
主脉区的薄壁细胞 Parenchyma cells in the main veins	少量、较大;越靠近近轴面越少(图版 I-9)	较多、大;越靠近近轴面越少(图版 I-8)	较少、较大
维管束周围薄壁细胞 Parenchyma cells around the vascular bundle sheath	多、较大	多、大	多、大
叶片中央细胞 The cells in the middle of the leaf blade	少、较大	多、大	多、大
叶片边缘的细胞 The cells in the edge of the leaf blade	少、较小	较多、大	较多、较大
表皮细胞 Epidermal cells	无	主脉区较多、大;其余部位较少	少量、较大

2.2 透射电镜下的观察结果

在幼叶萌动初期,第一片次生叶(真叶)细胞的边缘具较多明显的液泡,且分布是越靠近细胞中央,液泡越大;并具少数的造粉体;细胞中仅有几个具双层膜结构的简单细胞器,这些细胞器呈圆形或长圆形,尚未发育形成完整的片层的结构(图版 II-1);细胞的细胞核中核仁明显,核内含有一些电子密度很高的异染色质(图版 II-2);而细胞质分布在核外,有团聚现象。

当胚根突破种皮时,次生叶(真叶)细胞内液泡数目较少,但体积增大,同时造粉体体积也较上述的次生叶(真叶)细胞的大;细胞核内核仁明显增大,核内染色质的电子密度变低,细胞核边缘清晰;微管数目增多;并逐渐分化产生类似于线粒体、高尔基体形状的具双层膜包被、并有内膜形成环状、弯曲结构的细胞器;还具有一些由类囊体堆叠在一起组成的简单基粒的结构(图版 II-3);同时产生不具晶体的微体。

在胚芽外露期,次生叶(真叶)细胞内液泡大,并有逐渐向细胞中央延伸的趋向;造粉体数目增多,体积变大,而且充满细胞的大部分位置;细胞此时形成较多的微管;具双层膜的细胞器已经形成内膜、片层等内部结构,从而形成线粒体(图版 II-4);线粒体在细胞中主要分布在角隅附近;同时有许多部位可见膜轮廓清晰的前质体及散布的具明显晶体的微体(图版 II-5);细胞核中的染色质散布在细胞核内,且其靠边性也不如上一时期那么明显。此时的初生叶细胞,出现的造粉体及液泡均不如次生叶(真叶)细胞的多,具膜的细胞器内膜的结构也不如次生叶(真叶)细胞丰富;但细胞也具有线粒体、前质体、微体等细胞器。而且细胞较次生叶(真叶)细胞的大;细胞核内核仁也较明显,染色质出现明显的聚合。

在胚芽外露后期,次生叶(真叶)细胞内形成大液泡,造粉体分布较集中,淀粉粒明显;叶绿体(图版 II-6)、高尔基体、线粒体等具膜的细胞器明显且发育完全。在细胞质中还分布有较多的微管;细胞核明显,染色质成团分布,并有沿核膜分布的现象。

在幼叶发育期,第一片次生叶(真叶)的细胞出现明显的大液泡,细胞内线粒体分化完全,叶绿体内的基粒及内囊体发育完全,基质分布均匀,此外在细胞中出现明显的微体,这些微体内具明显的晶体和堆叠在一起的微管,并有零散的核糖体分布;同时在细胞质中出现多聚核糖体及环状的微管。第二片次生叶(真叶)在透射电子显微镜下可以看见细胞核明显,造粉体的膜上出现明显的核糖体。

3 讨论

从实验结果看出:幼叶在进行光合作用以前,已有淀粉粒出现,其来源之一是由种子向叶片输送的糖类物质转化而成。另外从透射电镜观察材料显示,幼叶细胞的细胞器的发生是:造粉体最先形成,线粒体较早出现;而叶绿体在叶片即将抽出时才形成;这说明幼叶在叶绿体形成以前,其生长所需要的营养靠自身的淀粉粒提供,微体的出现及发育也进一步证明这点,这与前人的观点不同(山东农业科学院玉米研究所,1987)。

(1)有学者认为:胚芽鞘的生长并非由于分生组织的存在、细胞分裂发生的结果,而是由于胚性细胞吸水引长,自上而下液泡化的结果(欧阳学智等,1997)。但从胚芽鞘细胞的数量、大小及其维管束的

变化看,其伸长并不仅为吸水伸长,还有分化、生长的结果。

(2)一些禾本科植物的种子在萌发过程,胚中原有的营养物质逐渐降解,为幼苗的发育提供能量(席湘媛等,1994;王建波,1997),玉米也具这种特性;这从浸种 5 h 后在第一片真叶中观察到蛋白质,表皮细胞中观察到淀粉粒,而胚根萌发后则观察不到上述现象可以证明。同样胚芽鞘的薄壁细胞的淀粉粒从种子开始萌发时的大量分布,到逐渐递减,直至叶片即将抽出时,仅在叶枕周围及输导组织周围零星分布,也同样证明胚芽鞘的淀粉粒为叶的生长发育提供营养和能量。由于植物在其生长过程中营养物质中的可溶性糖具有“含量超过其本身消耗能力时,过量的糖就会以不溶状态——淀粉暂时贮藏,作为以后发育的物质贮备”的特点(席湘媛等,1994)。因此在叶片抽出前的时期,营养主要靠胚乳物质降解后向叶片输送的糖类转变而成。而幼叶发育期的次生叶(真叶)具较多淀粉粒,是叶绿体出现后进行光合作用产生的。

(3)在玉米种子萌发过程,胚中原有营养物质逐渐被消化的同时有新的物质积聚;输导组织分化尚未成熟,叶片的营养主要是由造粉体形成的淀粉粒提供,以保证叶片在抽出过程有足够的能量供给。这个积聚过程是:未分化形成输导组织(叶脉)的部位,其周围的细胞所含的淀粉粒较少或无,已分化形成输导组织(叶脉)的部位,其周围的细胞所含的淀粉粒较多;生长点没有淀粉粒分布;而在叶枕处有较多的淀粉粒分布。次生叶(真叶)细胞所含的淀粉粒的密度、数量及个体均多于和大于初生叶细胞的,这与这两类叶片的生长时间有关;但在这个发育阶段叶片本身无法积聚蛋白质。这个结果说明:种子本身的蛋白质和淀粉粒在种子萌发早期已经降解完毕;在光合作用形成营养物质以前的能量供给靠叶片本身积聚的淀粉粒供给;淀粉粒的积累可为新的发育阶段作准备,同时,在次生叶(真叶)细胞中淀粉粒的积累也出现高峰,预示着新的发育状态即将来临。而淀粉粒的积聚与输导组织的形成具有相关性:由基部向顶端发展,从叶片中部向两边发展。这与叶片的一、二级叶脉的发生规律(陈健辉,1999)是一致的;也有别于禾本科的其他种类(席湘媛等,1994)。

(4)Freeing(1992)认为玉米叶片原基由 5 层细胞组成,包括 2 层原表皮,3 层基本分生组织,叶脉

之间的叶肉细胞由 1 个基本分生组织细胞分裂形成。但在观察中发现的“叶边缘具 1~3 层细胞,以后也可形成小叶脉”的现象,可以说明叶片发育还有弥散式,通常这种发育存在于叶的边缘。Bosabalidis 等(1994)认为玉米叶片纵脉之间通常只有 2 个叶肉细胞间隔,所以,在叶片中央的叶肉组织应由基本分生组织衍生形成。

(5)在电镜下观察到微体时,细胞中已存在有线粒体、叶绿体,这说明当叶绿体形成以后营养物质的种类增多;而在叶绿体出现前,产生的淀粉粒是由种子中的贮藏物质不断降解转化而来的;因此淀粉粒分布的多少可以作为细胞分化的一个标志。

(6)淀粉粒的积累主要发生在基本分生组织衍生形成的较为成熟的细胞内。实验结果表明:在细胞分化阶段,淀粉粒作为发育信号而大量被利用,这在胚芽鞘与幼叶细胞内淀粉粒的含量与大小区别,是否说明生长期长的器官,其淀粉粒的积累具有区别于其他器官的控制因子,与光照等条件的关系如何还有待研究。

参考文献:

- 山东省农业科学院玉米研究所. 1987. 玉米生理[M]. 北京: 农业出版社, 48—56.
Bosabalidis AM, Evert RF, Russin WA. 1994. Ontogeny of the vascular bundles and continuous tissues in the

maize leaf blade[J]. *Amer J Bot*, **81**: 745—752.

Chen JH(陈健辉). 1999. The development of vein in *Zea mays* L. (玉米叶脉发育的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **19**(1): 65—69.

Freeing M. 1992. A conceptual framework for maize leaf development[J]. *Dev. Boil*, **153**: 44—58.

Hu SH(胡适宜), Xu LY(徐丽云). 1992. A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections(显示环氧树脂厚切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法)[J]. *Acta Botanica Sinica*(植物学报), **32**: 841—846.

OuYang XZ(欧阳学智), Xie SP(谢绍萍). 1997. Ultrastructural study on the ontogeny of minor veins and associated sheath tissues in the maize leave blades(玉米叶脉及其鞘组织个体发育的超微结构研究)[J]. *Acta Botanica Sinica*(植物学报), **30**(6): 494—499.

Xi XY(席湘媛), Ye BX(叶宝兴). 1994. Studies on embryo development and deposition of storage reserves in *Coix lacryma-jobi* (薏苡胚发育及贮藏营养物质的研究)[J]. *Acta Botanica Sinica*(植物学报), **36**: 573—580.

Wang JB(王建波), Chen JK(陈家宽), Li RQ(利容千), et al. 1997. Histochemical changes in seed germination process of *Sagittaria guyanensis* Subsp *lappula* (冠果草种子萌发过程的组织化学动态)[J]. *Acta Bot Boreal Occident Sin*(西北植物学报), **17**(1): 13—19.

图版说明

图版 I 1. 胚芽鞘中将要分化形成维管束的细胞团 $\times 172$; 2. 萌发初期的次生叶(真叶), 示未形成维管束的细胞团 $\times 182$; 3. 萌发初期的次生叶(真叶), 示刚分化的维管束 $\times 262$; 4. 胚芽鞘中的半周木维管束 $\times 250$; 5. 具少量蛋白质的次生叶(真叶)细胞, 箭头所示为蛋白质 $\times 325$; 6. 尚未形成维管束的次生叶(真叶), 箭头所示为淀粉粒 $\times 200$; 7. 萌发初期的第一(→白)、第二(→黑)片次生叶(真叶), 示淀粉粒的分布 $\times 91$; 8. 胚芽外露期的次生叶(真叶), 示主脉区细胞内淀粉粒的分布 $\times 138$; 9. 胚芽外露期的初生叶, 示主脉区细胞内淀粉粒的分布 $\times 126$; 10. 幼叶发育期的初生叶, 示主脉区细胞内淀粉粒的分布 $\times 113$; 11. 幼叶发育期的次生叶(真叶), 示发育成熟的维管束及其周围细胞淀粉粒的分布 $\times 175$; 12. 幼叶发育期的次生叶(真叶), 示叶片边缘细胞内淀粉粒的分布 $\times 337$ 。

图版 II 1. 萌发初期次生叶(真叶)细胞, 尚未发育形成完整的片层的结构 $\times 60\ 000$; 2. 萌发初期次生叶(真叶)细胞, 箭头所示为细胞核内的异染色质 $\times 8\ 000$; 3. 萌发初期次生叶(真叶)细胞, 示简单基粒 $\times 40\ 000$; 4. 成熟的次生叶(真叶)细胞, 黑箭头所示为线粒体, 白箭头所示为造粉体 $\times 20\ 000$; 5. 成熟的次生叶(真叶)细胞, 示具晶体的微体 $\times 50\ 000$; 6. 成熟的次生叶(真叶)细胞, 示叶绿体 $\times 25\ 000$ 。

Explanation of Plates

Plate I 1. The cell group which being formed the vascular bundle of the coleoptile $\times 172$; 2. The secondary leaf (下转第 456 页 Continue on page 456)

- 制备方法及其用途[P]. 中国专利(CN1431200A), Council of Scientific and Industrial Research. 1969. The Wealth of India[M]. New Delhi: Publications and Information Directorate, 313-314.
- Hong XQ(洪筱坤), Wang ZH(王智华), Li QY(李琴韵), et al. 2000. Analysis and Testing of Chemical Composition on Chinese Traditional Patent Medicine (中成药化学成分的分析)[J]. *Traditional Patent Medicine* (中成药), **22**(1): 80-100.
- Krstulovic AM, Brown BR. 1982. Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography[M]. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Wang Q(王琦), Sun LL(孙立立), Jia TZ(贾天柱). 2000. The Review of Development of Chinese Herbal Processing(中药饮片炮制发展回眸)[J]. *Traditional Patent Medicine* (中成药), **22**(1): 33-58.
- Wang Y(王宇), Yang ML(杨美玲). 1995. The anti-hypertensive mechanism of OL-W 红丝线醇提水转溶物的降压作用[J]. *Journal of Jinan University (Medicine Edition)* (暨南大学学报(医学版)), **16**(4): 22-25.
- Xie YC(谢运昌), Cheng JY(程菊英). 1997. Advance on the research of Zilanhong Color from *Peristrophe Roxburghiana* (紫蓝红色素的研究进展)[J]. *Chinese Wild Plant Resources* (中国野生植物资源), **16**(4): 9-13.
- Xie YC(谢运昌), Wen YX(文永新), Jiang XH(蒋小华), et al. 2003b. The molecular constitution and chemical change of the precursor of the pigment from *Peristrophe baphica* (山蓝色素前体的分子组成和化学变化)[J]. *Guihaia* (广西植物), **23**(4): 367-369.

(上接第 444 页 Continue from page 444)

during the initial stage of the germination. Showing the cell group before the vascular bundle formed $\times 182$; 3. The secondary leaf during the initial stage of the germination. Showing the vascular bundle of the differentiation $\times 262$; 4. The semi-amphivasal bundle in the coleoptile $\times 250$; 5. The secondary leaf with limited protein. Showing the protein $\times 325$; 6. The secondary leaf before the vascular bundle formed. Showing the starch grain $\times 200$; 7. The first (white arrow) and the second (black arrow) secondary leaf during the initial stage of the germination. Showing the starch grain $\times 91$; 8. The secondary leaf during the plumule showing. Showing the starch grain in the parenchyma cells of the main vein $\times 138$; 9. The primary leaf blade during the plumule showing. Showing the starch grain in the parenchyma cells of the main vein $\times 126$; 10. The primary leaf blade during the initial germination period of the seed. Showing the starch grain in the parenchyma cells of the main vein $\times 113$; 11. The secondary leaf during the initial germination period of the seed. Showing the starch grain in the parenchyma cells of the vascular bundle and the cells around it $\times 175$; 12. The secondary leaf during the initial germination period of the seed. Showing the starch grain in the parenchyma cells of the edge by the leaf blade $\times 337$.

Plate II 1. The cells of the secondary leaf in initial stage of the germination. Showing the unformed organelle $\times 60\ 000$; 2. The cells of the secondary leaf in initial stage of the germination. Showing the heterochromatin in the nucleus $\times 8\ 000$; 3. The cells of the secondary leaf in initial stage of the germination. Showing the granal thylakoid $\times 40\ 000$; 4. The cells of the secondary leaf. Showing the mitochondrion (black arrow), and the amyloplast (white arrow) $\times 20\ 000$; 5. The cells of the secondary leaf, showing the microbody with crystalloid $\times 50\ 000$; 6. The cells of the secondary leaf, showing the chloroplast $\times 25\ 000$.