

低温胁迫下番茄细胞超微结构的变化

张 静¹, 朱为民^{2*}

(1. 扬州环境资源职业技术学院, 江苏 扬州 225127;

2. 上海市农业科学院 设施园艺研究所 国家大宗蔬菜产业技术体系上海试验站, 上海 201106)

摘要: 为研究低温下番茄细胞超微结构的变化, 以耐寒性较弱的番茄品种 010 为试材, 观察其幼苗经 6、10、25 °C 处理后 10 d 细胞超微结构的变化。结果表明: 25 °C 处理下, 叶绿体结构致密有序, 体内类囊体片层有规则的整齐排列, 细胞的超微结构中无嗜锇颗粒的积累; 6、10 °C 低温处理下, 叶绿体超微结构损伤, 叶绿体部分膜解体破裂, 类囊体片层结构排列紊乱, 变形或扭曲, 细胞内有较大的淀粉粒和大量嗜锇颗粒的积累。低温逆境导致番茄细胞膜系统和细胞结构受到破坏。

关键词: 番茄; 低温胁迫; 细胞; 超微结构; 叶绿体; 类囊体; 嗜锇颗粒; 淀粉粒

中图分类号: S641.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)02-0108-04

Studies on Ultrastructural Changes of Tomato Cells under Chill Stress

ZHANG Jing¹, ZHU Wei-min^{2*}

(1. Yangzhou Vocational College of Environment and Resource, Yangzhou 225127, China;

2. Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Institute of Horticultural Facilities, National Large Vegetable Industry Technology System Shanghai Experiment Stations, Shanghai 201106, China)

Abstract: In order to investigate the ultrastructural changes of tomato cells under chill stress, the changes of cell ultrastructure under different temperatures of 6 °C, 10 °C and 25 °C for ten days were studied using tomato chill-sensitive cultivar 010 as the materials. The results showed that under 25 °C the chloroplast structure was compact and orderly, the body of thylakoid revealed arrangement of the rules of neat and the cells in ultrastructure did not accumulated a particle osmium tetroxide. The structure of chloroplast was partly destroyed under chill stress of 6 °C, 10 °C. The membrane of chloroplast partly disjointed, its structure arrayed disorderly and twisted, and there were numerous large starch grains and osmophilic granules in the cell. Low temperature adversity led to the damage of cellular structure of cell membrane system of tomato.

Key words: tomato; chill stress; cell; ultrastructure; chloroplast; thylakoid; osmium tetroxide; starch grain

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 起源于热带、亚热带地区, 属茄科番茄属, 由于栽培适应性强, 品种多, 产量高, 营养丰富, 现已成为我国主要的果菜之一。番茄的保护地栽培在气温较低的冬春季节进行, 在早春育苗期间常会因为低温的影响而使

生长发育受阻, 严重影响到其成株期的生长发育、早期产量和果实商品性^[1]。因此, 对其逆境下细胞超微结构的研究也显得尤为重要。

低温胁迫对植物光合作用的影响是很大的, 直接引发光合机构(叶绿体等)的损伤^[2]。近年来, 从

收稿日期: 2011-10-08

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项资助

作者简介: 张 静(1978-), 女, 江苏扬州人, 讲师, 硕士, 主要从事园艺植物栽培等课程的教学和科研工作。

E-mail: zjwj2001@163.com

* 通讯作者: 朱为民(1969-), 男, 江苏泰州人, 研究员, 博士, 硕士生导师, 主要从事蔬菜育种与栽培工作。

E-mail: wmzhu69@126.com

细胞的亚显微结构(特别是叶绿体和液泡)方面研究植物抗寒(冷)机制的报道较多。Kimball 和 Salisbury^[3]对几种抗寒性牧草的低温试验结果证实,叶绿体膜结构的稳定性与植物的抗寒性呈正相关。董合铸等^[4]指出,小麦植株经冰冻后,最先受到伤害的是叶绿体,线粒体则表现出相对的稳定性。李生泉等^[5]研究不同抗冷级别的棉苗在低温处理后叶片细胞超微结构的变化时,发现细胞结构(主要是叶绿体和液泡)的稳定性与棉花品种的抗冷性密切相关。有试验表明,低温锻炼黄瓜幼苗,在出现可见伤害之前,叶片超微结构已经发生了明显的变化。叶绿体变形,数量减少,膜系统受到破坏,致使植株光合能力下降^[6-7]。马德华等^[8]研究发现,弱光破坏叶片膜系统,造成光合过程酶活性的改变。此外,弱光造成叶绿体发育不良,排列紊乱,超微结构遭到破坏,叶绿体数量减少,叶绿素的降解加剧,使叶绿素含量降低^[9]。低温胁迫下叶绿体、线粒体超微结构的损伤也与膜脂过氧化的加剧有关^[10]。关于低温下番茄细胞超微结构的变化,还未见有关报道。

由于不耐低温品种的细胞器遭受低温的破坏程度大,作为切片观察的材料较为典型,故本研究以耐寒性较弱的番茄品种叶片为试材,观察其幼苗经低温处理后 10 d 细胞超微结构的变化,研究低温对番茄细胞超微结构的影响,为进一步开展番茄低温生理研究工作奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为耐寒力较弱的番茄品种 010,由上海市农业科学院园艺研究所提供。

1.2 试验方法

将试材按常规方法播种育苗,当苗长至四叶一心时,选取长势一致的幼苗,放入 ZRX-300D 智能人工气候培养箱(杭州钱江仪器设备有限公司)内进行

不同低温胁迫处理。试验设 3 种温度处理:6℃/24 h(A)、10℃/24 h(B)、25℃/24 h(C),其中 25℃为对照,光照强度设为 5 000 lx,每天光照时间为 12 h(6:00—18:00),各处理株数分别为 10~12 株,重复 3 次。低温胁迫后第 10 天,取植株相同部位新鲜叶片,分别切成大小约为 0.5 mm×0.5 mm 的组织块,然后迅速投入用 2% 焦锑酸钾(pH 值 7.6)配制的 3% 戊二醛固定液中,4℃固定 2 d,再用含 2% 焦锑酸钾的磷酸缓冲液洗涤 3 次,每次 0.5 h。将洗涤过的材料转移至用 2% 焦锑酸钾(pH 值 7.6)配制的 1% OsO₄(锇酸)中,4℃下固定 1.5 h。固定完成后,先用重蒸水洗涤 3 次,再用 pH 值 10.0 的重蒸水洗涤 2 次,每次 0.5 h。此后,用系列体积分数乙醇逐级脱水(30%→50%→70%→80%→90%→100%),脱水时间分别为 5 min→10 min→12 h→15 min→20 min→30 min,最后用 100% 丙酮脱水 30 min。

包埋:用 1:1(丙酮:纯环氧树脂 EPON812)包埋剂浸透,时间为 12 h,然后用纯环氧树脂 EPON812 包埋剂定位包埋,时间为 48 h,60℃恒温箱聚合,以瑞士 LKB-V 型超薄切片机切片,切片后用 1.5% 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色。最后置于日本 JEM-1200EX 透射电子显微镜中进行观察拍片。

2 结果与分析

由图 1 可以看出,番茄品种 010 各个处理的细胞超微结构切片有明显的差异。A 处理即 6℃低温处理,植株叶片叶绿体基粒片层的发育严重受阻,类囊体片层发育受阻,排列方向发生改变,产生变形扭曲,类囊体结构排列不紧密,类囊体片层垛叠不紧,部分部位发生片层结构的解体、松散,且内部有较大的淀粉粒的积累,叶绿体膜的部分部位发生破裂,膜受到损伤。植株组织中发现有嗜锇颗粒的积累。

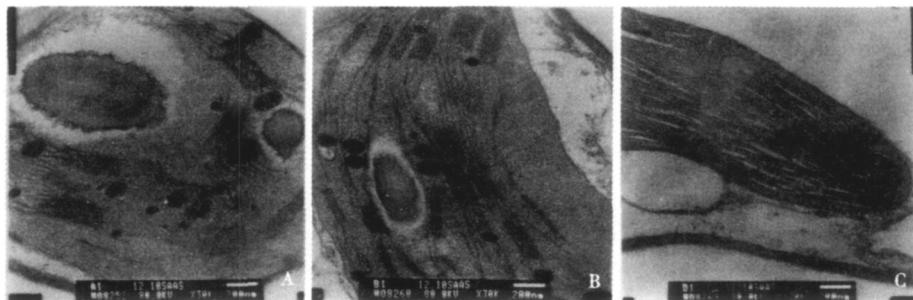


图 1 不同低温胁迫下番茄细胞超微结构比较

B 处理即 10℃ 低温处理,叶绿体的发育相对于 A 处理较好,类囊体片层垛叠较整齐,叶绿体内有小淀粉粒的积累,数量较多,有少量类囊体片层发生断裂,解体。植株组织中也有嗜锲颗粒的积累。

C 处理即 25℃ 对照,叶绿体外形清晰可见,呈长椭圆形,体内类囊体片层有规则的整齐排列,其结构致密有序,叶绿体发育较好,其内基粒片层发育也较好,基粒片层和基质片层较丰富。叶绿体内有极少量的淀粉粒积累,且形状很小,说明光合产物的运输顺利无阻,植株细胞的超微结构中无嗜锲颗粒的积累。

3 讨论与结论

叶绿体对低温的敏感性较强,是光合作用对低温反应较大的原因之一^[11]。叶绿体是植物光合作用的基本单位,叶绿体片层膜垛叠整齐,片层膜数目大是叶绿体光合能力强的标志之一^[12]。有研究认为^[12],低温胁迫后叶绿体外膜部分破损,类囊体片层稀疏,且排列不规则。董炜博等^[13]研究发现,花生感染病毒后,叶绿体畸形,类囊体片层减少,基粒缩小且排列不整齐,并有大量淀粉粒累积,膜系统松弛,有溶解现象。刘爱峰等^[14]在研究盐胁迫对大麦细胞超微结构的影响时,也得到了类似的结论。可见逆境下植物的超微结构遭到破坏。

本试验电镜切片结果表明,在 25℃ 处理下,番茄细胞叶绿体发育良好,体内类囊体片层有规则的整齐排列,其结构致密有序,基粒片层和基质片层较丰富。叶绿体内有极少量的淀粉粒积累,且形状很小,说明光合产物的运输顺利无阻,植株细胞的超微结构中无嗜锲颗粒的积累。而在 6℃ 和 10℃ 低温处理下,植株叶片叶绿体基粒片层的发育受阻,类囊体片层发育受阻,排列方向发生改变,产生变形扭曲,类囊体结构排列不紧密,类囊体片层垛叠不紧,部分部位发生片层结构的解体、松散,且内部均有较大的淀粉粒的积累,叶绿体膜的部分部位发生破裂,膜受到损伤,植株组织中发现有大量嗜锲颗粒的积累,这与前人的结论是基本一致的。

低温下叶绿体超微结构发生变化,可能有多方面的原因。首先低温影响叶绿素和叶绿体内片层系统的形成,导致类囊体片层发育受阻,垛叠不紧,部分片层结构解体、松散。由于叶绿体内片层形成异常,发生降解,不能垛叠成基粒,因而脂类大量积累,出现嗜锲颗粒,这与洪剑明等^[15]对玉米逆境下超微结构的研究结果是一致的。嗜锲颗粒是在基质中出现的许多脂质球,脂质球是脂类的贮藏库,它在基质

中形成一个个质体小球^[16]。其次,低温作用下,膜脂发生了相变,产生解体^[17],膜脂过氧化使得叶绿体的内外膜逐步瓦解,外层被膜消亡,类囊体膜逐渐解体,同时基质中脂类累积即形成许多脂质球。有报道指出^[10,18],低温引起细胞中丙二醛(MDA)含量显著增加时,叶绿体被膜破裂和片层结构解体,MDA 损伤叶绿体的超微结构;同时细胞内过量的自由基不但加剧诱发膜脂过氧化,还直接攻击叶绿体中的生物功能分子(如酶、色素蛋白复合体、核酸等)使叶绿体功能受损。叶绿体是植物细胞内自由基形成的主要场所,细胞器的损伤可能是由自由基对其膜损伤的结果^[14]。

低温下叶绿体内有大颗粒的淀粉粒,是因为低温影响了光合产物淀粉粒的运输。由于运输受阻,淀粉粒积累在叶片中就降低了光合速率。有研究认为,在较高的零上低温下细胞内含物发生变化,叶绿体内大颗粒的淀粉累积,是光合速率降低的原因之一^[11]。

本试验结果表明,低温逆境下,番茄细胞膜系统和细胞结构受到破坏,特别是叶绿体超微结构发生不同程度的破坏。叶绿体部分膜解体,类囊体片层排列紊乱,甚至扭曲变形,叶绿体内有大量的淀粉粒和嗜锲颗粒的存在。

参考文献:

- [1] 林多,杨延杰,范文丽,等.低温对番茄幼苗叶片活性氧代谢的影响[J].辽宁农业科学,2001(5):1-4.
 - [2] 何洁,刘鸿先,王以柔,等.低温与植物的光合作用[J].植物生理学通讯,1986(2):21-26.
 - [3] Kimball S L, Salisbury F B. Ultrastructural changes of plants exposed to low temperature[J]. Amer J Bot, 1973, 60: 1028-1033.
 - [4] 董合铸,孙龙华,简令成.不同抗寒性小麦品种的麦苗在冰冻—化冻后叶片细胞亚显微结构的变化[J].植物学报,1980,22(4):339-342.
 - [5] 李生泉,侯燕平,范月仙.不同抗冷性级别的棉苗在低温处理后叶片细胞超微结构的变化[J].电子显微学报,1998,17(3):231-236.
 - [6] 马德华,庞金安,李淑菊,等.短期强低温处理对黄瓜幼苗光合作用的影响[J].河北农业大学学报,1998,2(2):39-42.
 - [7] 王毅,方秀娟,徐欣,等.黄瓜幼苗低温锻炼处理对叶片细胞叶绿体超微结构的影响[J].园艺学报,1995,22(3):299-300.
 - [8] 马德华,庞金安,霍振荣,等.弱光对黄瓜幼苗光合及膜脂过氧化作用的影响[J].河南农业大学学报,1997,32(1):68-72.
- (下转第 114 页)

牵牛体内存在化感物质。发芽速率是衡量化感作用较为敏感的一个指标^[8]。化感物质含量低的浸提液可提高丰抗 78、津绿 75 的发芽率,随含量提高,浸提液又起抑制作用。所有的处理均降低了西由 78 和早熟 5 号的发芽率。在幼苗生长时,低、中含量浸提液增加株高,高含量时降低株高,浸提液基本上抑制根长。抑制程度随含量升高而增加。由于根的生长受到抑制,根部发育不良,吸收水分、养分受阻进而导致地上部分发育缓慢或发育不良,最终表现为减少白菜产量。

圆叶牵牛的化感物质可以存在于根、茎、叶、花、果实、种子中,通过残枝分解、雨水淋溶、茎叶挥发等途径进入土壤中,进而影响其他植物种子的萌发和幼苗的生长和发育。中国是全球受外来生物入侵影响最大的国家之一^[9]。植物的化感作用是普遍存在于自然界的一种重要的化学生态防御机制,植物与周围的生物群落通过次生代谢物质为媒介建立了稳固的化学作用关系,研究和掌握这些化学作用规律,对认识植物群落结构和演替并合理开发利用,实现杂草和病虫害有效控制,减少农业生态系统对化学农药的依赖具有重要的意义^[10]。

参考文献:

[1] 左胜鹏,马永清,李秀维.植物化感作用与生物多样性

[J].植物遗传资源学报,2006,7(4):494-498.

[2] 方芳,郭水良,黄林兵.入侵植物加拿大一枝黄花的化感作用[J].生态科学,2004,23(4):331-334.

[3] 何衍彪,张茂新,何庭玉,等.飞机草化感作用的初步研究[J].华南农业大学学报:自然科学版,2002,23(3):60-62.

[4] 杨超,慕小倩.伴生杂草播娘蒿对小麦的化感效应[J].应用生态学报,2006,17(12):2389-2393.

[5] 郑丽,冯玉龙.紫茎泽兰叶片化感作用对 10 种草本植物种子萌发和幼苗生长的影响[J].生态学报,2005,25(10):2782-2787.

[6] 张茂新,凌冰,孔垂华,等.薇甘菊挥发油的化感潜力[J].应用生态学报,2002,13(10):1300-1302.

[7] 沈慧敏,郭鸿儒,黄高宝.不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步评价[J].应用生态学报,2005,16(4):740-743.

[8] 陈晓远,凌木生,高志红.干旱胁迫对水稻叶片可溶性糖和游离脯氨酸含量的影响[J].河南农业科学,2006,12(1):26-30.

[9] 万方浩,郑小波,郭建英.重要农林外来入侵物种的生物学与控制[M].北京:科学出版社,2005:11.

[10] 沈慧敏,郭鸿儒,黄高宝.不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步研究[J].应用生态学报,2005,16(4):740-743.

(上接第 110 页)

[9] 沈文云,马德华,侯锋,等.弱光处理对黄瓜叶绿体超微结构的影响[J].园艺学报,1995,22(4):397-398.

[10] 陈少裕.膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J].植物生理学通讯,1991,27(2):84-90.

[11] 马德华,庞金安,李淑菊,等.黄瓜耐低温研究进展[J].天津农业科学,1997,3(4):1-7.

[12] 李贇,束怀瑞,石荫坪,等.苹果三倍体和二倍体细胞超微结构观察[J].西北农业学报,1999,8(3):68-70.

[13] 董炜博,石延茂,赵志强,等.花生感染条纹病毒(PSV)后叶片细胞超微结构研究[J].花生科技,2000(2):1-2.

[14] 刘爱峰,赵檀方,段友臣.盐胁迫对大麦叶片细胞超微结构影响的研究[J].大麦科学,2000(3):20-22.

[15] 洪剑明,汪洪杰,邱泽生.缺铁对玉米根和叶细胞超微结构的影响[J].电子显微学报,1999,18(12):590-595.

[16] 王忠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,2000.

[17] 刘鸿先,曾韶西,李平.植物抗寒性与酶系统多态性的关系[J].植物生理学通讯,1981(6):6-11.

[18] 曾韶西,王以柔.低温对黄瓜幼苗子叶光合强度和叶绿素荧光的影响[J].植物生理学通讯,1989(4):12-15.