

豌豆下胚轴细胞的超微结构对低温的适应性变化

陈旭微*

温州大学教师教育学院, 浙江温州 325035

摘要: 采用透射电子显微镜观察经10℃低温处理2 d的豌豆下胚轴细胞超微结构的结果显示, 10℃低温处理后, 豌豆下胚轴细胞超微结构未受到显著伤害, 但其一些抵御寒冷的适应性能力有变化。质膜呈波浪状, 或质壁分离, 或凹陷、外凸形成小泡; 中央大液泡和细胞质内, 以及内质网和高尔基体附近多处出现泡状结构或小泡; 多数质体变形为哑铃形、变形虫形、马蹄形、镰刀形和棒状等, 其中的淀粉粒显著减少。

关键词: 豌豆; 低温; 下胚轴细胞; 超微结构

Adapted Responses of Hypocotylar Cell Ultrastructure in Garden Pea (*Pisum sativum* Linn.) at Low Temperature

CHEN Xu-Wei*

College of Teacher Education, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China

Abstract: Responses of hypocotylar cell ultrastructure in garden pea (*Pisum sativum* Linn.) were investigated after 2-day stress at 10℃ by electronic transmission microscope. The results showed that hypocotylar cells did not suffer a significant damage at 10℃; instead, low temperature could induce some adapted responses. For example, plasma membrane became undulated, plasmolysis was observed, and small vacuoles were formed by invagination or evagination. Small vacuoles appeared in central vacuole or cytoplasm, even nearby endoplasmic reticulum or Golgi apparatus. The form of plastids became dumb-bell shaped, amoeba-shaped, horseshoe-shaped, sickle-shaped or rod-like, and starch grains in plastids reduced obviously.

Key words: garden pea (*Pisum sativum* Linn.); low temperature; hypocotylar cell; ultrastructure

低温会引起植物细胞超微结构的变化。低温胁迫下质体变为哑铃形(戴大临等 1998; 杨涛等 1998), 细胞质致密度增加或下降(Lee等2002), 线粒体肿胀, 内质网膨胀, 核糖体数量减少, 质膜内陷, 液泡吞噬作用增强, 膜小泡数量增加等(Ishikawa 1996; Murphy 和 Wilson 1981; 陈旭微等 2006)。浙江金华地区属亚热带气候, 全年平均温度为 17.1~18.7℃, 大多数时间的气温在 10℃以上, 但 12~2 月的月均温度低于 10℃, 为 5.0~7.2℃。豌豆属半耐寒性植物, 在其不同生长发育阶段最适温度略有不同, 一般为 12~20℃(刘向英 2009)。豌豆通常在 10 月下旬至 11 月中旬播种, 露地越冬, 次年 4~5 月份采收, 因此在其生长期有时会受到 10℃低温的胁迫, 但迄今有关此方面的报道尚少。为此, 本文研究了 10℃下豌豆下胚轴细胞的超微结构变化, 以为植物耐寒性和抗逆生理育种的研究提供参考。

材料与amp;方法

豌豆(*Pisum sativum* Linn.)为浙江金华农家品种,

由浙江省金华市农科所提供。豌豆种子于 25℃下浸种 24 h 露白后取出, 播种在铺有 4 层纱布的搪瓷盘上暗培养。胚根长到 3~4 cm 时, 幼苗分成 2 组, 一组继续放在 25℃下暗培养(对照), 另一组转入 10℃低温下暗处理。2 d 后取近子叶端的下胚轴, 用于电镜观察。

电镜样品的制备与观察按以下几个步骤。(1)固定: 切取近子叶下胚轴 1 mm×2 mm 小片, 用 2.5% 戊二醛 4℃下预固定过夜, 经 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0)漂洗 15 min×3 次后, 用 1% 四氧化锇后固定 2 h; (2)漂洗和脱水: 固定结束后, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0)漂洗 1 h, 中间换液 4 次, 进行乙醇系列脱水; (3)包埋: 用 Spurr's 低粘度环氧树脂进行渗透和包埋脱水后, 分别用包埋剂:乙醇=1:1 渗透 1 h, 包埋剂:乙醇=3:1 渗透 3 h, 纯包埋剂渗透

收稿 2009-08-20 修定 2009-09-18

资助 浙江省教育厅科研项目(20060385)。

* E-mail: chenxuwei@126.com; Tel: 0577-86680941

过夜; (4)聚合: 将经过以上处理的小下胚轴直放在 0.5 mL eppendorf管中, 加入纯包埋剂, 盖上盖子, 置于加温聚合器中, 37 °C 预热6 h后, 70 °C 聚合过夜; (5)超薄切片: 包埋材料经修块和定位后在 Reichart-Jung ULTRACUTE 型超薄切片机上切片, 切片厚度 70 nm; (6)电子染色: 超薄切片用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色各 15 min; (7)在日本 JEOL 公司生产的 JEM-1200EX 型投射电镜下观察、拍照。

结果与讨论

1 质膜对低温的适应性变化

质膜可能是低温伤害的初始部位, 抗寒锻炼能增强膜结构的稳定性, 从而提高植物的抗寒性(简令成 1992)。未做低温处理的豌豆下胚轴细胞质膜平整光滑、紧贴细胞壁(图 1-a)。经 10 °C 低温处理后的豌豆下胚轴细胞内, 可以观察到质膜结构的一些适应性变化。10 °C 低温处理后, 多数细胞的质膜不再保持平整光滑, 而呈波浪状(图 2-a、k), 这种变化可增加质膜量, 避免冰冻脱水后细胞收缩对质膜产生损伤(刘祖祺和张石诚1994); 低温处理后,

有的质膜内陷(图 2-a、d、j、k)或外凸(图 2-e)形成小泡, 这些小泡不但能将细胞内物质外排到质膜和细胞壁之间, 提高此处浓度, 防止质壁分离处产生冰冻(周蕴薇2007), 还能克服质膜对大分子物质通透性的限制(李玲等1998), 增加细胞质的浓度, 降低冰点, 最终植物抗寒性提高。低温还可增加质膜对水的透性, 并导致原生质轻度脱水, 产生质壁分离(图 2-e、k), 有报道(简令成 1992)指出, 细胞质壁分离能促使胞间连丝中断, 破坏共质体连续性, 以致植株生长停止或减弱, 进入暂时休眠, 以抵御冷害。

2 液泡对低温的适应性变化

中央大液泡是个水溶性体系, 也是发生冷害的最危险部位, 易受低温胁迫。未做低温处理的豌豆下胚轴细胞具中央大液泡, 偶见小液泡(图 1-a)。10 °C 低温处理后的细胞内小液泡数目明显增多(图 2-d、f、h、i)。一些大小不均、透明度较大的小液泡聚集在细胞核(图 2-d)、内质网(图 2-d)和高尔基体(图 2-a)等细胞器附近, 也有多个较大的小液泡聚集分布在致密度极高的细胞质中(图 2-f、i), 我们还观察到部分长条内质网断裂成若干小片段, 每

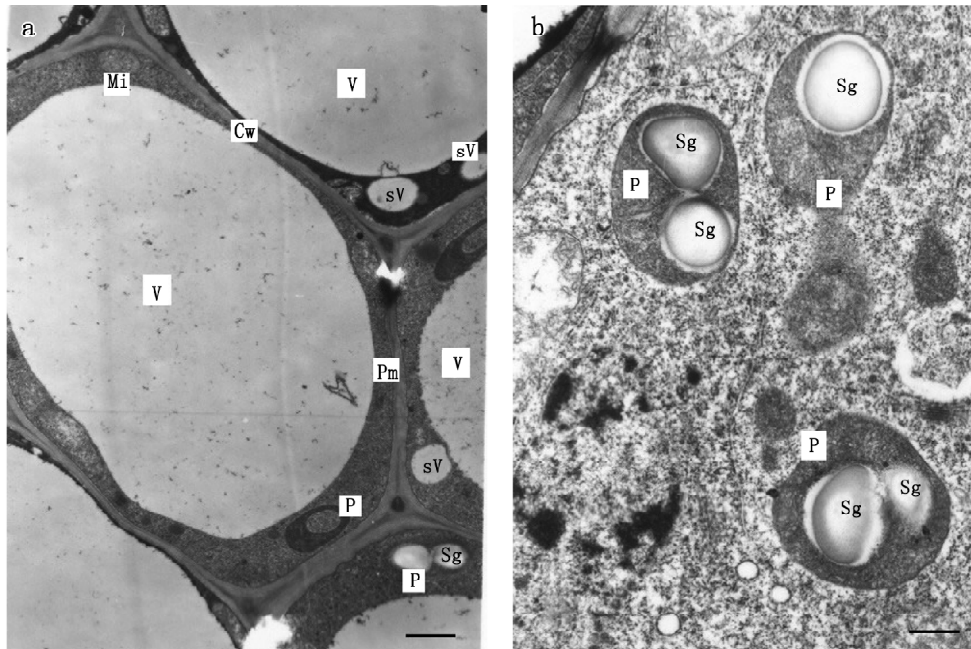


图1 未经低温处理(25 °C)的豌豆下胚轴细胞

Fig.1 Hypocotyl cells of garden pea at 25 °C

a: 细胞具中央大液泡, 偶见小液泡, 质膜平整光滑、紧贴细胞壁; 黑色标尺为 1 μm。b: 质体常椭圆形或圆球形, 电子密度高, 其内常见淀粉粒。黑色标尺为 500 nm。V: 液泡; sV: 小液泡; P: 质体; Sg: 淀粉粒; Pm: 质膜; Mi: 线粒体; Cw: 细胞壁。

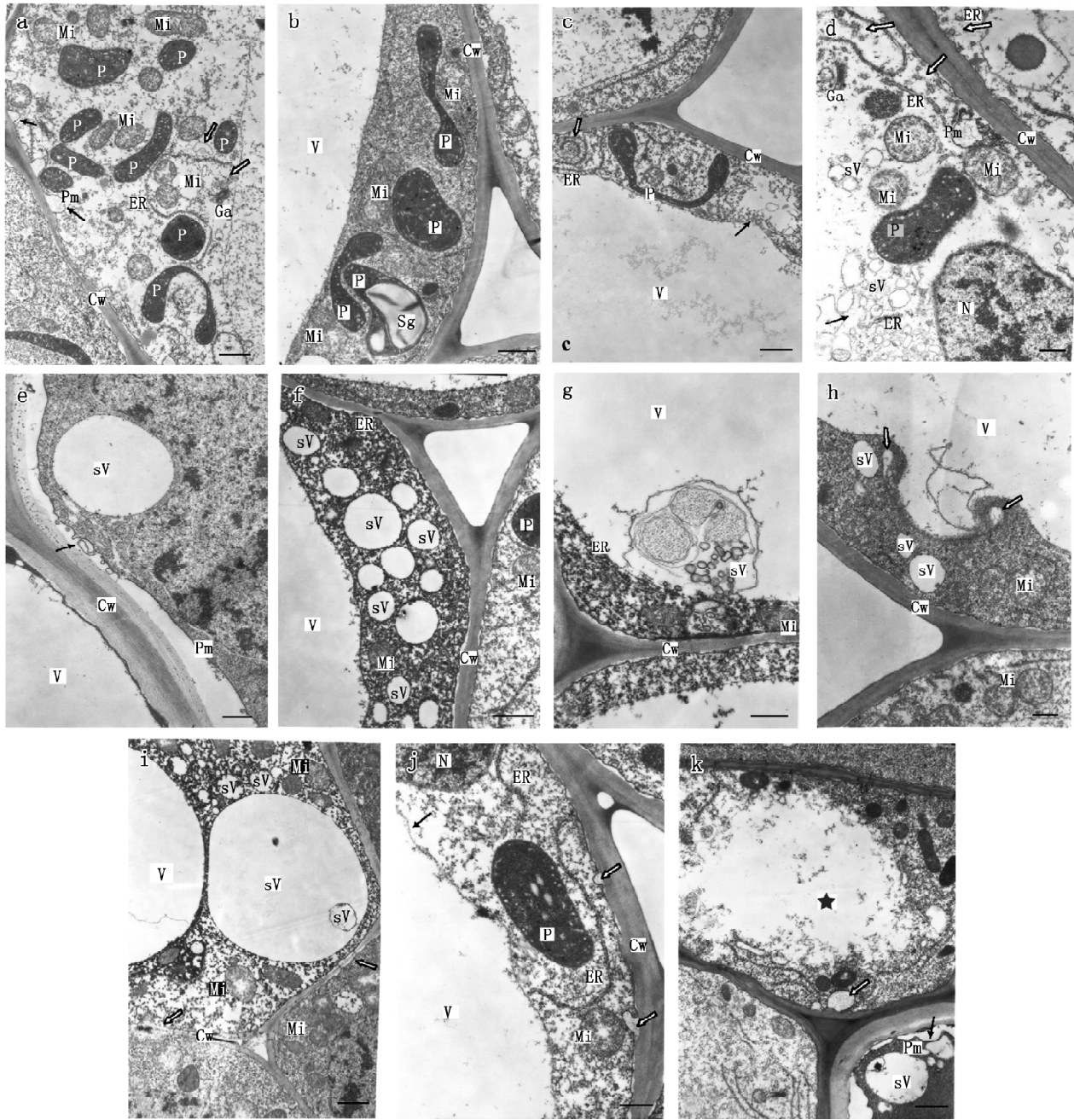


图2 经低温处理(10 °C)的豌豆下胚轴细胞

Fig.2 Hypocotyle cells of garden pea at 10 °C

a: 质体变形为马蹄形、变形虫形或棒状, 质膜凹陷(箭头), 细胞壁厚薄不均, 高尔基体附近出现大小不均的小泡(空心箭头), 线粒体聚集在变形质体附近。b: 哑铃形、变形虫形和镰刀形质体聚集出现, 其内偶见淀粉粒。c: 质体变为马蹄形, 内质网排成同心圆(空心箭头), 液泡膜略凹且变薄(箭头)。d: 质膜凹陷, 质体变为哑铃形, 内质网断裂成若干小段, 每一小段形成一个水泡(空心箭头); 细胞核附近聚集大小不均的小液泡(箭头), 并见内质网片段。e: 质壁分离, 质膜外凸形成水泡(箭头)。f: 细胞质致密度极高, 细胞器难以辨认; 小液泡聚集在细胞质中。g: 细胞质被几层管状物包被, 进入中央大液泡。h: 细胞质向中央大液泡突起、反卷, 并在细胞质中形成小液泡(空心箭头)。i: 大小不均的液泡出现在致密度较高的细胞质中; 大液泡内见小液泡; 细胞壁不连续(空心箭头), 细胞膜破裂(空心箭头); j: 质膜凹陷(空心箭头), 液泡膜变薄(箭头); k: 液泡膜解体(带星细胞), 质膜出现内陷(空心箭头)、波浪状(箭头)以及质壁分离(箭头)。V: 液泡; sV: 小液泡; P: 质体; Sg: 淀粉粒; Pm: 质膜; Cw: 细胞壁; Mi: 线粒体; ER: 内质网; Ga: 高尔基体; N: 细胞核。a, b, c, f和j图中的黑色标尺为1 μm; d, e, g, h, i和k图中的黑色标尺为500 nm。

一小段形成一个小泡, 有个别内质网则排成同心圆, 其内有小泡样结构(图 2-c)。韩善华(1990)认为这些内含物较少的小泡会形成小液泡, 出现并聚集在细胞质中, 形成一种排水渠道, 可将水排到细胞外, 以避免胞内结冰, 因而植物的抗寒能力增强。

此外, 10 °C 低温处理后, 部分区域细胞质向中央大液泡突起、反卷, 并在细胞质中形成小液泡, 同时一些管状物被甩入中央大液泡内(图2-h); 还有的细胞质向液泡突起时, 带走了附近丰富的内质网, 内质网在内陷中迅速膨大, 形成一些管状或泡状结构(图 2-g)。这些结构包裹着细胞质, 形成细胞质小球, 最后释放到液泡中(韩善华 1990)。细胞质小球可导致细胞液中溶质含量的增加, 冰点降低, 于是植株的抗寒性提高(刘祖祺和张石诚 1994)。

3 质体对低温的适应性变化

质体是植物细胞重要的细胞器之一, 它的形态变化常引起学者的关注。当质体受外界环境影响时, 或当一种质体转变为另一种质体时, 常发生变形, 多变为哑铃形、变形虫状、马蹄形或环形等(汪堃仁等 2002)。未经 10 °C 低温处理的豌豆下胚轴细胞的质体常椭圆形或圆球形, 电子密度高, 常有淀粉粒(图 1-a、b)。10 °C 低温后, 部分质体仍呈圆球形或椭圆形(图 2-a、j), 但多数质体变形为哑铃形、变形虫形、马蹄形、镰刀形或棒状聚集或分散出现(图 2-a、b、c), 其内偶见淀粉粒(图 2-b)。有研究认为, 质体变形是质体发育过程中的正常现象(施国新等 1993), 它只是一种不同形态类型的造粉体(汪堃仁等 2002)。也有人(戴大临等 1998; 杨涛等 1998)认为, 哑铃形质体的出现表明质体正以分裂的方式来增加数目。还有报道指出, 变形的质体可能承担着分泌功能(吴晓东和杨世杰 1998), 或具有合成和积累油脂能力(郑易之 1990)。根据我们观察到的质体积累淀粉粒明显减少以及线粒体聚集在变形质体附近等情况可以认为, 质体变

形是分解淀粉粒的一种途径或是增加质体数目的一种方式, 聚集的线粒体(图 2-a)可为其提供能量。低温下质体通过分解淀粉粒来增加细胞质中的可溶性糖浓度, 并由于质体数目的增加, 其光合作用能力提高, 最终植株的抗寒性增强。

参考文献

- 陈旭微, 杨玲, 章艺(2006). 低温下的绿豆下胚轴细胞超微结构变化. 植物生理学通讯, 42 (6): 1099~1102
- 戴大临, 张启堂, 付玉凡, 文艺(1998). 甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 不定根根尖细微结构的初步研究. 西南师范大学学报 (自然科学版), 23 (4): 454~461
- 韩善华(1990). 离体培养油菜叶肉细胞在脱分化过程中小液泡形成的初步研究. 西北植物学报, 10 (2): 90~93
- 简令成(1992). 植物抗寒机理研究的新进展. 植物学通报, 9 (3): 17~22
- 李玲, 邓江明, 郭丽荣(1998). 扶桑插条愈伤组织质膜内陷的超微结构研究. 云南植物研究, 20 (3): 312~314
- 刘向英(2009). 豌豆栽培技术. 吉林蔬菜, 1: 23~24
- 刘祖祺, 张石诚(1994). 植物抗性生理学. 北京: 中国农业出版社, 8~32
- 施国新, 徐祥生, 王文, 杜开河(1993). 莲子叶细胞中变形质体的观察. 植物学通报, 10 (4): 47~49
- 汪堃仁, 薛绍白, 柳惠图(2002). 细胞生物学(第二版). 北京: 北京师范大学出版社, 685~689
- 吴晓东, 杨世杰(1998). 荠菜胚柄细胞中质体和线粒体的形态变异. 电子显微学报, 17 (1): 7~10
- 杨涛, 陈德海, 吴荔萍(1998). 安祖花组织培养及其细胞的叶绿体发育过程的电镜观察. 热带植物通讯, 271 (1): 1~7
- 郑易之(1990). 大豆子叶细胞中变形质体的形成和发育过程. 电子显微学报, 3: 40
- 周蕴薇(2007). 低温锻炼和低温胁迫期间翠南报春叶肉细胞超微结构的适应变化. 植物生理学通讯, 43 (2): 255~258
- Ishikawa HA (1996). Ultrastructural features of chilling injury: injured cells and the early events during chilling of suspension-cultured mung bean cells. *Am J Bot*, 83: 825~835
- Lee SH, Singh AP, Chung GC, Kim YS, Kong IB (2002). Chilling root temperature causes rapid ultrastructural changes in cortical cells of cucumber (*Cucumis sativus* L.) root tips. *J Exp Bot*, 53 (378): 2225~2237
- Murphy C, Wilson JM (1981). Ultrastructural features of chilling injury in *Episcia reptans*. *Plant Cell Environ*, 4: 261~265