

高温锻炼和水杨酸预处理对热激下葡萄叶肉细胞超微结构的影响

刘悦萍^{1,2} 黄卫东^{1*} 张俊环¹

(¹ 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; ² 北京农学院生物技术系, 北京 102206)

摘要: 以‘京秀’葡萄 (*Vitis vinifera* L. ‘Jingxiu’) 幼苗为试材, 研究了高温锻炼或水杨酸预处理对热激后叶肉细胞超微结构的影响。结果表明, 热激后细胞结构明显被破坏, 高温锻炼预处理对叶肉细胞造成了轻微的伤害, 但延缓了之后的热激对叶肉细胞超微结构的进一步伤害, 主要表现在质膜、液泡膜、细胞核和叶绿体等部位。水杨酸预处理对叶肉细胞结构无明显影响, 并在之后的热激下细胞结构的受伤程度远低于蒸馏水处理。这说明, 高温锻炼或水杨酸预处理保持了叶肉细胞结构在高温下的稳定性, 从而提高了葡萄幼苗的抗热性。

关键词: 葡萄; 热激; 高温锻炼; 水杨酸; 叶片; 超微结构

中图分类号: S 663.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2006) 03-0491-05

Effect of Heat Acclimation and SA Pretreat on the Ultrastructure of Mesophyll Cell in Grape Plants under Heat Shock

Liu Yueping^{1,2}, Huang Weidong^{1*}, and Zhang Junhuan¹

(¹ College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; ² Department of Biotechnology, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China)

Abstract: The effects of heat acclimation and salicylic acid (SA) pretreatment on the ultrastructure of mesophyll cell exposed to heat shock were investigated in young grape (*Vitis vinifera* L. ‘Jingxiu’) leaves. The results showed that the ultrastructure of normal leaves was damaged remarkably in response to heat shock. The ultrastructure of heat-acclimated leaves had a little change, but heat acclimation pretreatment attenuated the destruction of ultrastructure in the following heat shock, principally showing in plasmalemma, vacuole membrane, nucleus and chloroplast. SA pretreatment had almost no effect on the ultrastructure of mesophyll cell, but the degree of ultrastructure destruction was less than that of H₂O pretreatment in the following heat shock. Therefore, heat acclimation and SA pretreatment can both stabilize ultrastructure under heat shock and enhanced the thermotolerance of young grape plants.

Key words: Grape plant; Heat shock; Heat acclimation; Salicylic acid; Leaf; Ultrastructure

高温是影响我国农业生产的主要逆境之一, 目前人们已从多方面探讨了高温胁迫对植物的影响。Da等^[1]在对白芥苗 (*Sinapis alba* L.) 的研究中发现, 外源水杨酸 (Salicylic acid, SA) 处理可达到高温锻炼的效果。随后, 这些结果在葡萄幼苗^[2,3]和高羊茅幼苗^[4]上均得到了证实。王光耀等^[5]报告了高温锻炼延缓了热胁迫对菜豆叶肉细胞超微结构的破坏。本文试图从细胞超微结构的角度对高温锻炼或 SA 诱导植物抗热性的原因进行探讨, 为进一步研究 SA 提高植物抗热性的机制提供细胞学依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2005 - 08 - 03; 修回日期: 2005 - 11 - 02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070531, 30270918)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: huanggw@263.net)

1.1 试验材料

供试材料为‘京秀’葡萄 (*Vitis vinifera* L. ‘Jingxiu’), 将培养好的无性繁殖的穴盘葡萄小苗移栽于塑料钵, 盆栽用土为园土 草炭土 蛭石 = 1 1 1。缓苗后, 培养 1 个营养枝。温室昼夜温度为 25 ~ 27 / 18 ~ 20 , 相对湿度为 40% ~ 50%, 常规管理。

1.2 高温锻炼、SA 预处理以及热激处理

选择生长一致、无病虫害的葡萄植株 (具有 6 片功能叶), 在试验的前 1 d, 依次用清水和蒸馏水冲洗茎叶。将一部分植株在光照培养箱中进行 (38 ± 0.5) 的高温锻炼预处理, 以正常生长的植株为对照; 另选一部分植株喷施 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 溶液 (用 KOH 调节 pH 至 7.0), 叶片湿润为止, 以喷施蒸馏水的植株作为 SA 处理的对照。在高温锻炼处理 12 h 后, 喷施 SA 处理 6 h 后, 将所有对照和预处理的植株置于光照培养箱中进行 (45 ± 0.5) 的热激处理, 光照强度为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 处理时间分别为 3 h 和 6 h。每个处理 3 株幼苗, 3 次重复。处理之后剪取植株上部且叶位一致的叶片, 用于超微结构的研究。

1.3 超微结构观察

选取处理和对照植株从茎端开始数第 3 片叶, 在叶片第 3 与第 4 主脉之间, 距中脉 5 mm 处, 取约 4 mm 长, 1 mm 宽的小组织块。用 3% 的戊二醛前固定, 1% 的锇酸后固定, 磷酸缓冲液冲洗, 常规梯度乙醇脱水, 纯丙酮过渡, Spurr 包埋, 60 高温聚合, LKB-8800 型切片机超薄切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色, 在 JEM-100S 透射电镜下观察与照相。

2 结果与分析

葡萄幼苗叶片在正常生长条件下的细胞结构见图版, 1、2。细胞膜、叶绿体、线粒体和细胞核结构均正常, 在叶绿体内有较大的淀粉粒存在, 并发现有嗜锇颗粒; 质膜、液泡膜和细胞核膜清晰可见。幼苗高温锻炼预处理 12 h 后, 叶绿体内的淀粉粒减少 (图版, 3), 液泡膜上出现了一些囊泡 (图版, 4), 细胞核结构无明显变化 (图版, 5)。用 SA 预处理之后, 细胞结构无明显变化 (图版, 6)。

热激 3 h 后: 对照 和对照 的叶片细胞结构均发生了明显的变化, 如图版, 9 和图版, 12 所示, 细胞质膜、液泡膜破裂, 细胞内囊泡增多、增大; 叶绿体膜部分解体, 类囊体片层松散, 排列紊乱, 叶绿体上出现了许多体积较大的脂类物质, 并有空洞产生; 细胞核变形, 核膜破裂, 核质凝集。高温锻炼预处理的叶片细胞结构的伤害程度远低于对照, 表现为叶绿体膨大, 但片层结构仍紧密排列, 细胞内囊泡增多 (图版, 7); 核膜不清晰 (图版, 8)。热激对 SA 预处理的叶片细胞结构的损伤低于对照, 表现为叶绿体膨大, 液泡被囊泡充满, 仍可观察到质膜 (图版, 10), 核膜不清晰, 但核质无凝集现象 (图版, 11)。将图版, 7 和图版, 10 对比, 可以看出在高温热激 3 h 后, 高温锻炼和 SA 处理对细胞结构的保护作用没有明显差别; 对比图版, 8 和图版, 11, 可以看出 SA 处理对细胞核的保护作用要高于高温锻炼处理。

热激 6 h 后: 对照 和对照 的细胞结构已被完全破坏, 细胞趋于解体 (图版, 15、18)。高温锻炼预处理的细胞结构伤害也进一步加重, 但远低于对照, 如图版, 13 所示, 细胞出现质壁分离现象, 囊泡增多, 叶绿体出现空洞, 类囊体片层松散, 有脂类物质出现; 细胞核膜消失, 但无核质凝集现象 (图版, 14)。SA 预处理的细胞结构受伤程度与高温锻炼预处理相似, 液泡内充满囊泡, 质膜也被囊泡取代, 叶绿体结构紊乱, 类囊体片层松散, 也有脂类物质出现 (图版, 16); 核膜不清晰 (图版, 17)。

3 讨论

目前有关高温对植物细胞超微结构的影响已有报道, 较多的研究认为细胞的膜系统^[5,6]和叶绿

体^[7]是比较敏感的部位。

在本试验中证实, 高温对葡萄叶片细胞伤害的原初部位为膜系统, 包括质膜、液泡膜和细胞核膜, 在以 45℃ 热激 3 h 后, 液泡膜部分消失, 质膜变得凸凹不平, 核膜破裂 (图版, 9、12), 在热激 6 h 后, 细胞固有的膜系统已完全遭到破坏 (图版, 15)。液泡膜比质膜对高温更加敏感, 并且在膜上会形成许多囊泡, 推断它可能是指示细胞受到热伤害首先出现的形态学指标。热激后的葡萄叶片细胞叶绿体结构也发生了明显的变化, 类囊体片层结构更易受伤 (图版, 9、12), 说明高温胁迫下光合反应的热失活可能与类囊体结构的损伤有密切的关系。本试验结果表明细胞核也是对高温热激比较敏感的细胞器, 核膜和核质的损伤较为严重 (图版, 9、12), 这可能与高温下细胞基因表达的变化及热激蛋白的形成具有密切的关系。

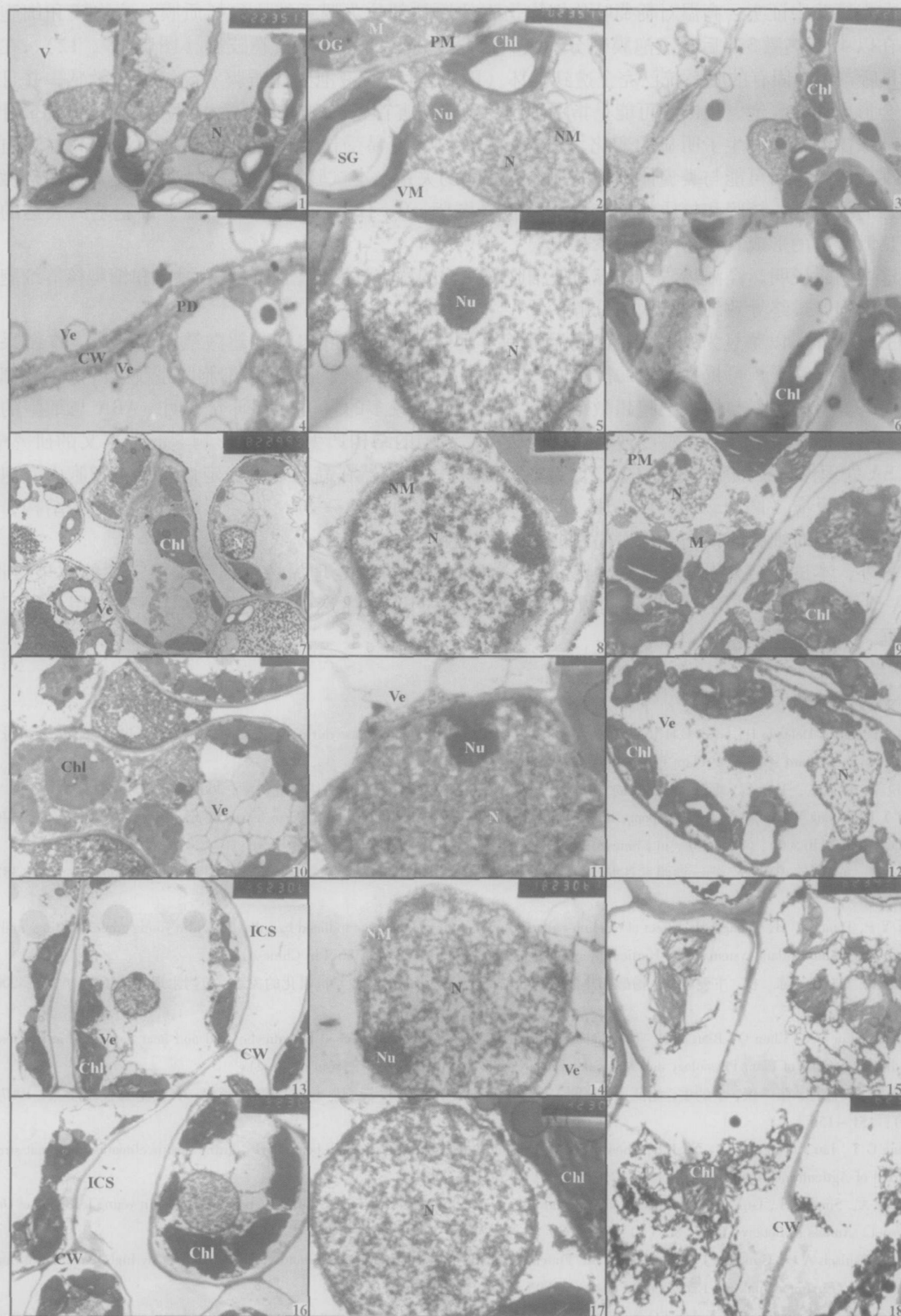
这些结果说明, 高温热激首先容易使细胞膜结构的稳定性降低, 其次是叶绿体和细胞核等细胞器的结构受损, 最终导致细胞结构的分解。

王光耀等^[5]以菜豆为试材, 得出高温锻炼可延缓热胁迫对叶肉细胞超微结构的破坏。本结果进一步证实了高温锻炼可提高植物的抗热性, 表现在高温锻炼延缓了高温对细胞膜系统、叶绿体和细胞核的伤害。有关激素与植物细胞超微结构的关系目前无较多的报道。有研究表明, ABA 与细胞的结构具有密切的关系, 并且在温度逆境下, 会对植物细胞的结构产生不同的影响^[8]。在本文的研究中, 外源 SA 处理保持了细胞的膜结构及叶绿体、细胞核等细胞器在高温下的稳定性, 并有细胞内囊泡增多的保护性反应 (图版, 10、11、16、17)。可见, SA 同 ABA 一样, 也会影响植物细胞的结构, 并可以减轻高温对细胞的损伤, 从而提高植物的抗热性。

另外, 本试验结果表明了高温热激下, SA 和高温锻炼预处理保持细胞结构稳定性的效果接近, 但 SA 预处理对细胞结构无伤害 (图版, 6), 此结果为 SA 在生产中提高植物抗热性的应用提供了理论依据。

参考文献:

- 1 Dat J F, Lopez-Delgado H, Foyer C H, Scott I M. Parallel change in H_2O_2 and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology*, 1998, 116: 1351 ~ 1357
- 2 刘悦萍, 黄卫东, 王利军. 葡萄叶片饲喂的 ^{14}C -水杨酸对高温胁迫的应激反应. *中国农业科学*, 2003, 36 (6): 685 ~ 690
Liu Y P, Huang W D, Wang L J. Response of ^{14}C -salicylic acid to heat stress after being fed to leaves of grape plants. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36 (6): 685 ~ 690 (in Chinese)
- 3 刘悦萍, 黄卫东, 张俊环. 钙—钙调素对水杨酸诱导葡萄幼苗耐热性的影响及与抗氧化的关系. *园艺学报*, 2005, 32 (3): 381 ~ 386
Liu Y P, Huang W H, Zhang J H. Effect of calcium-calmodulin on the thermotolerance induced by salicylic acid in young grape seedlings and associated with antioxidant system. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33 (2): 381 ~ 386 (in Chinese)
- 4 何亚丽, 刘友良, 陈 权, 卞爱华. 水杨酸和热锻炼诱导的高羊茅幼苗的耐热性与抗氧化的关系. *植物生理与分子生物学报*, 2002, 28 (2): 89 ~ 95
He Y L, Liu Y L, Chen Q, Bian A H. Thermotolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat hardening in tall fescue seedlings. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2002, 28 (2): 89 ~ 95 (in Chinese)
- 5 王光耀, 刘俊梅, 张 仪, 余炳生, 沈征言. 热胁迫和热锻炼过程中菜豆叶肉细胞超微结构的变化. *农业生物技术学报*, 1997, 7 (2): 151 ~ 156
Wang G Y, Liu J M, Zhang Y, Yu B S, Shen Z Y. Studied on ultrastructure in common bean leaves during heat acclimation and heat stress. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 1997, 7 (2): 151 ~ 156 (in Chinese)
- 6 Pareek A, Singla S L, Grover A. Short-term salinity and high temperature stress-associated ultrastructure alterations in young leaf cells of *Oryza sativa* L. *Annals of Botany*, 1997, 80 (5): 629 ~ 639
- 7 Xu Q, Paulsen A Q, Guikema J A, Paulsen G M. Functional and ultrastructure injury to photosynthesis in wheat by high temperature during maturation. *Environmental and Experimental Botany*, 1995, 35 (1): 43 ~ 54
- 8 Kukina I M, Mikulovich T P, Kulaeva O N. The effects of abscisic acid on chloroplast protein synthesis and chloroplast ultrastructure in pumpkin cotyledons. *Russian Journal of Plant Physiology*, 1995, 42 (5): 686 ~ 695



图版说明: 1. 正常叶肉细胞, $\times 4\ 200$; 2. 图版, 1的局部放大, 质膜、液泡膜和核膜, $\times 10\ 000$; 3. 幼苗高温锻炼 12 h后的叶肉细胞结构, $\times 3\ 500$; 4. 图版, 3的局部放大, 质膜上的囊泡及胞间连丝, $\times 10\ 000$; 5. 图版, 3中细胞核的局部放大, $\times 18\ 000$; 6. SA预处理 6 h后叶肉细胞结构无明显变化, $\times 4\ 200$; 7. 热激 3 h后, 高温锻炼预处理的叶肉细胞结构出现伤害特征, $\times 2\ 800$; 8. 图版, 7中细胞核的局部放大, $\times 18\ 000$; 9. 热激 3 h后, 对照叶肉细胞的超微结构明显被破坏, $\times 4\ 200$; 10. 热激 3 h后, SA预处理的叶肉细胞结构出现了伤害特征, $\times 3\ 500$; 11. 图版, 10中细胞核的局部放大, $\times 14\ 000$; 12. 热激 3 h后, H_2O 预处理的叶肉细胞结构有明显的伤害特征, $\times 4\ 200$; 13. 热激 6 h后, 高温锻炼预处理的叶肉细胞结构受到较为严重的伤害, $\times 3\ 500$; 14. 图版, 13中细胞核的局部放大, $\times 18\ 000$; 15. 热激 6 h后, 对照的叶肉细胞结构完全被破坏, 只剩下解体的叶绿体以及囊泡, $\times 5\ 600$; 16. 热激 6 h后, SA预处理的叶肉细胞的结构受到较为严重的伤害, $\times 3\ 500$; 17. 图版, 16中细胞核的局部放大, $\times 14\ 000$; 18. 热激 6 h后, H_2O 处理叶肉细胞的结构解体, $\times 5\ 600$.

Chl 叶绿体; CW. 细胞壁; ICS 细胞间隙; M. 线粒体; N. 细胞核; Nu 核仁; NM. 核膜; OG 嗜锇颗粒; PM. 质膜; PD. 胞间连丝; SG 淀粉粒; V. 液泡; Ve 囊泡; VM. 液泡膜。

Explanation of plates: 1. The mesophyll cell of control plants grown in normal temperature, $\times 4\ 200$; 2. Plate 1 was enlarged partly, noting plasmalemma, vacuole membrane and nucleus membrane, $\times 10\ 000$; 3. The ultrastructure of mesophyll cell in heat-acclimated plants for 12 h, $\times 3\ 500$; 4. Plate 3 was enlarged partly, noting vesicles on plasmalemma and plasmodesmata, $\times 10\ 000$; 5. The nucleus in Plate 3 was enlarged, $\times 18\ 000$; 6. No obvious change was shown in mesophyll cell in SA pretreated plants, $\times 4\ 200$; 7. The damage was shown in mesophyll cell in heat-acclimated plants re-exposed to heat shock for 3 h, $\times 2\ 800$; 8. The nucleus in plate 7 was enlarged, $\times 18\ 000$; 9. Obvious change was shown in mesophyll cell of control plants exposed to heat shock for 3 h, $\times 4\ 200$; 10. The damage was shown in mesophyll cell in SA pretreated plants re-exposed to heat shock for 3 h, $\times 3\ 500$; 11. The nucleus in plate 10 was enlarged, $\times 14\ 000$; 12. Obvious change was shown in mesophyll cell of H_2O pretreated plants exposed to heat shock for 3 h, $\times 4\ 200$; 13. More damage appeared in mesophyll cell in heat-acclimated plants re-exposed to heat shock for 6 h, $\times 3\ 500$; 14. The nucleus in Plate 13 was enlarged, $\times 18\ 000$; 15. The ultrastructure of mesophyll cell in control plants under heat shock for 6 h was damaged totally; only disintegrated chloroplast and vesicles were in it, $\times 5\ 600$; 16. More damage appeared in mesophyll cell in SA pretreated plants under heat shock for 6 h, $\times 3\ 500$; 17. The nucleus in Plate 16 was enlarged, $\times 14\ 000$; 18. The mesophyll cell in H_2O pretreated plants under heat shock for 6 h was disintegrated, $\times 5\ 600$.

Chl Chloroplast; CW. Cell wall; ICS Intercellular space; M. Mitochondrion; N. Nucleus; Nu Nucleolus; NM. Nucleus membrane; OG Osmiophilic globule; PM. Plasmalemma; PD. Plasmodesmata; SG Starch grain; V. Vacuole; Ve. Vesicles; VM. Vacuole membrane

“中国园艺学会热带南亚热带果树分会成立大会暨首届学术研讨会” 会议

“中国园艺学会热带南亚热带果树分会”是由广东省农业科学院果树研究所、福建省农业科学院果树研究所、仲恺农业技术学院园艺系、中国热带农业科学院南亚热带作物研究所等单位联合申请, 并经中国园艺学会第九届六次常务理事会议扩大会议讨论同意成立的。经筹委会讨论决定, 将于 2006 年 8 月 25~27 日在广州市召开“中国园艺学会热带南亚热带果树分会成立大会暨首届学术研讨会”。会议内容包括: 热带、南亚热带果树发展战略 (包括果品销售与贸易); 生物技术、遗传育种与种质资源; 标准化安全生产; 果品贮藏与加工技术等。

会议将邀请国际热带水果组织、国家农业部、广东省农业厅等有关机构官员及国内外多名专家出席本次会议, 将特别邀请中国工程院院士束怀瑞教授、长江学者邓秀新教授、国际热带水果网络执行主席 IZHAM AHMAD 博士, 以及来自以色列、新西兰、印度等国学者作学术报告。

会议地点: 广东省广州市天河龙口东路 6 号远洋大厦。

会议日程: 2006 年 8 月 24 日报到注册, 25 日主题报告, 26 日分组讨论, 27 日参观考察。

会议将出版论文集, 征文工作现已开始, 欢迎踊跃投稿! 撰写格式请参照《园艺学报》最新格式要求。论文要求未曾公开发表, 一般不超过 5 000 字。征文截止时间为 2006 年 7 月 30 日。可通过电子邮件 (gsskejike@vip. 163. com) 提交。

会务费: 包括资料费、餐费等, 7 月 20 日前缴纳的 300 元/人, 7 月 21 日至会议期间缴纳的 400 元/人, 学生 (凭学生证) 及家属代表 200 元/人; 住宿费自理, 会议住宿为三星级标准, 标准间 (两人一间) 每日房费为 260 元。先通过 email 注册, 注册费通过银行或邮局汇款, 请注明会务费 (热带果树会议)。银行汇款: 开户单位: 广东省农业科学院果树研究所, 帐号: 44 - 056901040000137, 开户银行: 农行广州五山支行; 邮局汇款: 地址: 广州五山广东省农科院果树研究所, 邮编: 510640, 收款人: 蒋依辉。收到注册费后, 将用 email 回复予以确认。

会议承办单位和联系地址: 广东省农科院果树研究所, 广州五山, 邮编: 510640, 联系人: 蒋依辉, 刘传和, 电话: 020 - 38765510, 传真: 020 - 38765789, 手机: 13538782809, 电子邮箱: gsskejike@vip. 163. com。