

低温下的绿豆下胚轴细胞超微结构变化

陈旭微^{1,*} 杨玲² 章艺³

¹温州大学教育学院, 浙江温州 325027; ²浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004; ³衢州职业技术学院, 浙江衢州 324000

摘要 采用透射电子显微镜观察经 10℃ 低温处理 2 d 的绿豆下胚轴细胞超微结构变化的结果表明, 细胞受到不同程度的伤害, 其中大部分细胞的损伤是可逆的而非致死性的, 如内质网膜模糊和呈颗粒状; 线粒体呈现不同程度的膨胀, 其数量增加, 且聚集分布在内质网和高尔基体附近, 核糖体聚集成为多聚核糖体等。也有小部分细胞受到的伤害是致死性的, 如细胞质电子密度显著升高, 质体中淀粉粒过度积累, 内质网和高尔基体膨胀和解体, 小液泡频繁吞噬细胞质和细胞器, 细胞自溶死亡等。

关键词 低温; 绿豆; 下胚轴细胞; 超微结构

Changes in Ultrastructure of Hypocotyl Cells in *Phaseolus radiatus* Linn. under Low Temperature Condition

CHEN Xu-Wei^{1,*}, YANG Ling², ZHANG Yi³

¹Education College, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang 325027, China; ²College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China; ³Quzhou Professional and Technical College, Quzhou, Zhejiang 324000, China

Abstract Changes in ultrastructure of hypocotyl cells in mung bean (*Phaseolus radiatus* Linn.) were carried out to investigate after 2-d stress under 10°C low temperature. The results showed that hypocotyl cells suffered the different degrees of damage. The damage in most of cells was reversible and non-lethal, such as endoplasmic reticulum (ER) membranes were vague and became granular, mitochondria distended in varying degrees and aggregated nearby ER and Golgi apparatus and the number of them increased, ribosomes collected and became polysomes, and so on. We also observed small part of cells to lethal damages. For example, the density of cytoplasm increased noticeably, plastids accumulated starch excessively, both ER and Golgi apparatus swelled greatly and disintegrated eventually, little vacuoles phagocytized cytoplasm and organelle, and resulted in autolytic death of cells.

Key words low temperature; mung bean (*Phaseolus radiatus* Linn.); hypocotyl cells; ultrastructure

低温引起细胞超微结构变化的研究由来已久, 迄今仍陆续有报道 (Kratsch和Wise 2000; Lee等2002)。低温引起细胞超微结构的改变是多方面的: 质体积累淀粉粒或脂滴, 类囊体膜膨胀、不规则, 整个质体不规则并导致外膜分解 (Ishikawa 1996; Murphy和Wilson 1981); 线粒体明显肿胀, 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)。近年来, 低温胁迫的研究多数偏重于极端温度, 而实际上, 生长期间对冷敏感的植物受低温胁迫的温度一般较高, 如绿豆在温度低于 20℃ 时就不能开花结荚 (彭奕欣 1990)。为此, 本文研究了 10℃ 低温下绿豆

(*Phaseolus radiatus* Linn.) 细胞超微结构的变化, 以期为提高植株耐寒力与抗逆生理育种提供参考。

材料与方法

绿豆 (*Phaseolus radiatus* Linn.) 为浙江金华农家品种, 由浙江省金华市农业科学研究所提供。绿豆种子于 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

收稿 2006-06-29 修定 2006-11-02

资助 浙江省教育厅科研项目 (20060385)。

*E-mail: cxwzjcn@163.com, Tel: 0577-88373103

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, 切成1 mm×2 mm的小块, 4℃下用2.5%戊二醛前固定, 1%四氧化锇后固定, 以0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.2)漂洗, 梯度乙醇脱水, Spurr's树脂浸透、包埋, 用ULTRACUTE型超薄切片机(澳大利亚Reichert-Jung公司)切片, 超薄切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色后, 于JEM-1200EX型透射电镜(日本JEOL公司)下观察、拍照。

结果与讨论

1 未经低温处理的绿豆下胚轴细胞超微结构

未经低温处理的绿豆下胚轴细胞具有中央大液泡, 细胞核大且居中(图1-a), 细胞壁较厚并均匀, 细胞质致密度中等, 内有许多游离核糖体; 线粒体内外膜完整, 嵴发育相当好, 基质电子密度较高; 质体圆球形或椭圆形, 电子密度极高, 几乎看不清内部结构; 粗面内质网膜完整、连续, 池长且池间空隙一定, 上附着丰富核糖体(图

1-a、b); 高尔基体结构严整, 常出现在内质网附近(图1-b)。

2 低温处理后的绿豆下胚轴细胞超微结构

图2显示:

(1) 10℃低温下的绿豆下胚轴细胞受到不同程度的伤害, 有些细胞结构与未经低温处理的细胞相似, 有些受轻微伤害(图2-a), 有些则严重伤害(图2-b~f), 甚至有些细胞开始解体(图2-g、h)。伤害轻微的细胞表现为内质网的小部分区域膜结构出现模糊(图2-a, 箭头处), 但上仍附着丰富的核糖体。细胞质内游离核糖体聚集排列成串珠状, 结合为多聚核糖体, 导致细胞质电子密度轻微下降、透明度稍有增加(图2-a)。一般来说, 多聚核糖体的出现说明细胞正在进行着活跃的蛋白质合成(王亚馥等1994), 暗示细胞正在合成抗氧化保护酶, 从而缓解逆境造成的伤害。另外, 伤害轻微的细胞内线粒体结构虽与未经低温处理的细胞相似, 但数量增加, 聚集出现在内质网和高尔基体附近(图2-a、b), 构成强大的能量调节体系(周红

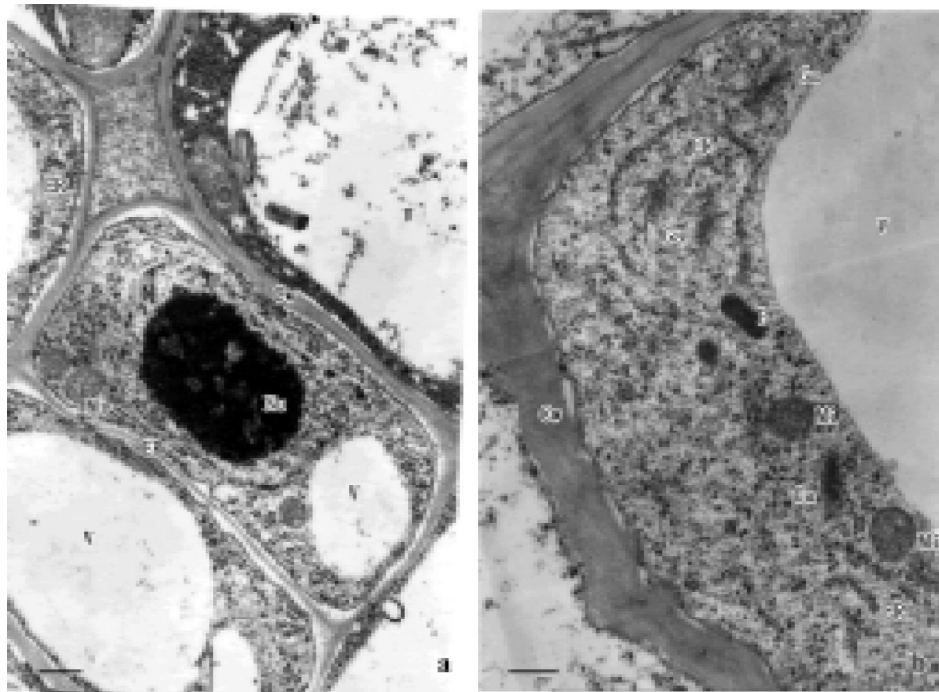


图1 未经低温处理(25℃)的绿豆下胚轴细胞

Fig.1 Hypocotyl cells of mung bean at 25℃

a: 细胞具中央大液泡, 细胞质电子密度适中、均匀, 核大且居中; b: 细胞壁较厚, 线粒体致密度较高, 嵴发育好, 内质网上核糖体丰富。V: 液泡; P: 质体; Mi: 线粒体; Cw: 细胞壁; ER: 内质网; Ga: 高尔基体; N: 细胞核; Nu: 核仁。黑色标尺为500 nm。

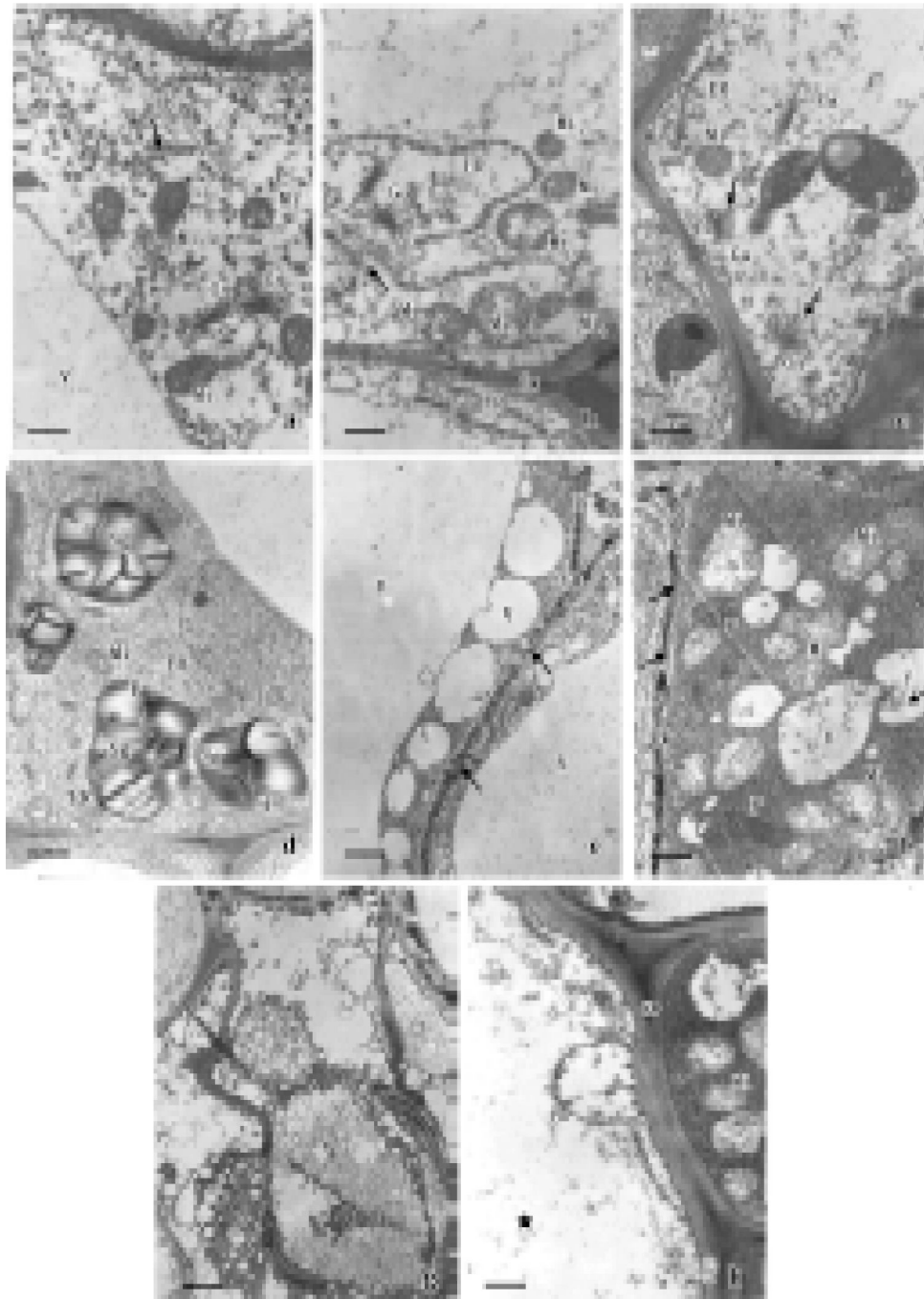


图2 经低温处理(10°C)的绿豆下胚轴细胞

Fig. 2 Hypocotyl cells of mung bean under low temperature (10°C)

a: 受低温伤害轻微的细胞。各细胞器结构基本与对照相似, 细胞质电子密度稍有下降, 透明度增加, 线粒体和核糖体出现聚集现象, 内质网膜模糊、不连续(箭头)。黑色标尺为500 nm。b: 受低温伤害较严重的细胞。细胞质致密度进一步下降, 线粒体出现不同程度的空泡化, 有的外膜模糊, 有的外膜破裂; 内质网结构进一步模糊, 变得颗粒状(箭头)。黑色标尺为500 nm。c: 受低温伤害较严重的细胞。高尔基体扁平囊膨胀, 一侧形成许多小泡(箭头)。黑色标尺为500 nm。d: 受低温伤害较严重的细胞。质体过度积累淀粉粒, 内质网上附着的核糖体数目明显减少, 部分线粒体有轻微膨胀。黑色标尺为500 nm。e: 受严重伤害的细胞。细胞质电子密度明显高于对照; 细胞壁不连续, 部分区域破裂(箭头); 细胞内出现许多小液泡。黑色标尺为1 μm 。f: 受严重伤害的细胞。线粒体空泡化明显, 致密度下降, 几乎为半透明和颗粒状; 液泡在吞噬细胞质(箭头)。黑色标尺为500 nm。g: 受严重伤害的细胞。细胞解体。黑色标尺为2 μm 。h: 受严重伤害的细胞。质膜内陷, 细胞解体(带星号的细胞)。黑色标尺为500 nm。V: 液泡; P: 质体; Pm: 质膜; Sg: 淀粉粒; Mi: 线粒体; Cw: 细胞壁; ER: 内质网; Ga: 高尔基体。

卫等 2003; Endress 和 Sjolund 1976; 郑文菊等 1999), 这就有效保证了后者在合成、加工、分泌和运输抗氧化保护酶(蛋白质)时的能量供应。因此, 10℃低温下, 细胞出现一些非致死性的应急变化。

(2) 有些伤害较严重的细胞中, 其细胞质致密度进一步下降, 透明度增加(图 2-b、c), 内质网膜更模糊, 附着其上的核糖体明显减少(图 2-d), 部分区域开始解体, 并变成颗粒状(图 2-b, 箭头处); 线粒体出现不同程度的空泡化(图 2-b, $Mi_1 \sim Mi_3$; 图 2-d), 有的外膜模糊(图 2-b, Mi_4), 有的外膜已破裂(图 2-b, Mi_5); 高尔基体的扁平囊膨胀, 彼此融合变得比较模糊, 其一侧形成许多小泡, 形似花篮(图 2-c, 箭头处); 质体膨胀、变形(图 2-c), 大部分则过度积累淀粉粒, 转变为造粉体(图 2-d)。细胞超微结构上的这些变化致使植物的同化物运输系统受破坏, 光合速率下降(Endress和Sjolund 1976; 廖飞勇和何平 2004), 从而影响植物的正常生长和发育。

(3) 在受严重伤害的细胞中, 细胞内几乎找不到成形的内质网和高尔基体(图 2-e、f), 可能是由于它们的膨胀破裂, 或是因多聚核糖体解聚和粗面内质网上的核糖体脱落引起细胞质内游离核糖体数目增加(图 2-d), 导致细胞质电子密度显著增加, 并远高于未经低温处理的细胞(图 2-d~h)。线粒体空泡化程度增加, 基质致密度下降, 变得半透明和呈颗粒状(图 2-f)。质体透明度明显高于未经低温处理的细胞, 并有轻微膨胀(图 2-f)。细胞壁不连续, 部分区域破裂(图 2-e、f)。这些都意味着细胞合成新蛋白质的能力降低(Lee 等 2002), 甚至是停止(翟中和 1995), 因而影响植物抵抗逆境的能力, 呈现出不可逆的伤害。有研究认为吞

噬泡(图 2-f)的出现是细胞对低温的一种适应性变化(王亚馥等 1994)。我们也观察到细胞内有许多小液泡(图 2-e、f), 其中个别小液泡正在吞噬细胞质(图 2-f)。但随着细胞自体吞噬作用的继续进行, 核糖体、内质网、高尔基体及其他细胞器完全消失(图 2-g), 细胞几乎只剩下一个透明状的空壳(图 2-h), 自体吞噬活动失去控制, 以致细胞自溶死亡(图 2-g、h) (欧阳学智等 1999)。这说明 10℃低温导致的细胞损伤是致死的。

参考文献

- 廖飞勇, 何平(2004). SO_2 熏气对油桐叶片细胞膜脂组成和叶绿体超微结构的影响. 植物生理学通讯, 40 (1): 42~44
- 欧阳学智, 谢绍萍, 贺竹梅(1999). 玉米叶片原形成层细胞衰退过程的超微结构研究. 植物学报, 41 (6): 570~575
- 彭奕欣主编(1990). 中国中学教学百科全书(生物卷). 沈阳: 沈阳出版社, 57
- 王亚馥, 崔凯荣, 汪丽虹, 王仑山(1994). 小麦胚细胞发生的超微结构研究. 植物学报, 36 (6): 418~422
- 翟中和(1995). 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 122~129
- 郑文菊, 王勋陵, 沈禹颖(1999). 几种盐地生植物同化器官的超微结构研究. 电子显微学报, 18 (5): 507~512
- 周红卫, 施国新, 徐勤松(2003). Cd^{2+} 污染水质对水生根系抗氧化酶活性和超微结构的影响. 植物生理学通讯, 39 (3): 211~214
- Endress AG, Sjolund RD (1976). Ultrastructural cytology of callus cultures of *Streptanthus tortuosus* as affected by temperature. Am J Bot, 63 (9): 1213~1224
- 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
- Kratsch HA, Wise RR (2000). The ultrastructure of chilling stress. Plant Cell Environ, 23: 337~350
- 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