

李艳艳,王俊青,李植良,等. 高温胁迫对不同耐热性茄子叶肉细胞超微结构的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):138-140.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.034

高温胁迫对不同耐热性茄子叶肉细胞超微结构的影响

李艳艳¹, 王俊青¹, 李植良^{2,3}, 孙保娟^{2,3}

(1. 平顶山学院,河南平顶山 467000; 2. 广东省农业科学院蔬菜研究所,广东广州 510640;

3. 广东省蔬菜新技术研究重点实验室,广东广州 510640)

摘要:为了探讨不同耐热性茄子在苗期对高温胁迫响应差异的细胞超微结构机制,以茄子热敏品系 05-1 和耐热品系 05-4 为试验材料,研究高温(43 ℃)胁迫 0、2、6、12 h 对其叶肉细胞超微结构变化的影响。结果表明,在高温胁迫下热敏和耐热茄子品系叶肉细胞和叶绿体均发生膨大,叶绿体淀粉颗粒减少;不同耐热性品系茄子叶绿体的类囊体膜片层均出现膨胀松散,但解体时间却比叶绿体被膜晚,叶绿体遭到高温破坏解体的时间也早于线粒体。相比之下,热敏品系较耐热品系叶肉细胞更早出现部分细胞质壁分离、叶绿体弯曲或膨大变形现象并出现内部脂质小球,说明耐热品系膜的热稳定性较热敏品系高。

关键词:茄子;高温胁迫;叶片;超微结构;耐热性

中图分类号: S641.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0138-03

茄子(*Solanum melongena* L.)为茄科茄属蔬菜作物,在世界各地广泛栽培。我国是世界上最大的茄子生产国,华南地区不仅是我国茄子的主要生产区,也是我国茄子的主要出口地区。广东省地处亚热带,茄子春、秋两季种植,其生长和收获正值高温季节,田间温度可达 40 ℃ 以上,恶劣的天气条件成为制约茄子生长发育的重要因素。茄子生长的适宜温度为 22~30 ℃,在温度达到 35 ℃ 以上时,其生长发育的各个阶段都会表现出一定的高温伤害症状,如叶片灼伤、花器官发育不良、坐果率下降、畸形果增多等,进而导致产量和品质的下降^[1-4]。高温会引起植物叶片生理代谢紊乱和细胞结构改变,对光合系统和抗氧化系统产生破坏^[5]。目前,有关高温胁迫对不同耐热性茄子苗期细胞生物学方面,特别是对细胞超微结构变化的影响还鲜见报道。本研究以热敏茄子品系 05-1 和耐热茄子品系 05-4 为试验材料,通过比较不同高

温胁迫时间下叶肉细胞质膜、叶绿体及线粒体结构的变化情况,旨在为从细胞学角度揭示茄子的耐热性提供一些参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用茄子材料是由广东省农业科学院蔬菜研究所选育的、苗期热胁迫鉴定及田间自然高温鉴定均表现为耐热的亲本自交系 05-4 和热敏感的亲本自交系 05-1^[2-3]。其中 05-4 为华南特色紫红长茄骨干系亲本自交系,05-1 为从北方茄子类型中分离出来的自交系。

1.2 试验方法

1.2.1 植物材料的处理 各供试品种的种子经催芽后,采用穴盘育苗,待幼苗具有 4~5 张真叶时放入人工智能光照培养箱内培养,昼一夜温度为 28 ℃—25 ℃,光—暗周期为 12 h—12 h,预培养 3 d,湿度保持在 70%~80%,再进行高温(43 ℃)处理,光—暗周期为 12 h—12 h。从茎端开始数选取处理组和对照组植株第 3 张真叶。将材料分为 2 组,1 组进行高温(43 ℃)处理,另 1 组仍在原培养条件下生长作为对照,湿度保持不变。每个处理设 3 次重复,每个重复至少 20 株。

1.2.2 方法 超薄切片法参照李正理的方法^[6],分别在高

收稿日期:2017-04-02

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(编号:16A210035);平顶山学院博士启动基金(编号:PXY-BSQD2016005);平顶山学院培育基金(编号:PXY-PYJJ2017005);广东省自然科学基金(编号:2015A030313568)。

作者简介:李艳艳(1984—),女,河南许昌人,博士,研究方向为植物分子育种。E-mail:liyanyan041@163.com。

[4]刘园,王四清. 大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)的研究动向[J]. 园艺学报,2005,32(4):748-752.

[5]郭丽霞,莫饶. 兰花育种研究现状及进展[J]. 广西农业科学,2007,38(3):303-309.

[6]曾碧玉,朱根发,张文惠. 大花蕙兰与墨兰杂交结实率研究初报[J]. 亚热带植物科学,2010,39(1):14-16.

[7]朱根发,陈明莉,罗智伟,等. 墨兰与大花蕙兰间杂种原球茎的诱导及增殖研究[J]. 园艺学报,2004,31(5):688-690.

[8]郭丽霞,莫饶. 海南原生墨兰花粉萌发试验初报[J]. 中国农学通报,2007,23(6):594-597.

[9]凌春英. 大花蕙兰和墨兰杂交育种研究[D]. 北京:北京林业大学,2010.

[10]张义,王亚莉,陈俊杰. 低温及药剂处理对李花粉生活力的影响[J]. 湖北农学院学报,2003,23(4):248-250.

[11]王利民,王四清,王彩霞,等. 大花蕙兰花粉离体萌发试验初报[J]. 中国农学通报,2005,21(4):122-124,161.

[12]曾宋君,陈之林,吴坤林,等. 兜兰无菌播种和组织培养研究进展[J]. 园艺学报,2007,34(3):793-796.

[13]周莉,罗凤霞,代力民. 丁香(*Syringa* L.)种间杂交幼胚离体培养研究[J]. 应用生态学报,2003,14(3):382-386.

温胁迫 0、2、6、12 h 后取材,从茎端开始数选取处理组和对照组植株第 3 张真叶,在其叶片中部主脉与边缘取约 1 mm 长×1 mm 宽的小组织块,迅速固定于用磷酸缓冲液(pH 值为 7.2)配制的 4% 戊二醛中,用 1% 锇酸溶液进行后固定,于 4℃ 固定 8~12 h,用磷酸缓冲液冲洗 3 次,再用 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值为 7.2)配制的 1% 锇酸溶液常温固定 3 h,之后用磷酸缓冲液冲洗 3 次,用不同浓度乙醇脱水,环氧丙烷过渡,Epon812 环氧树脂包埋,奥地利 Reichert-Jung 超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,在日立 H-600 II 型透射电镜下观察和拍照。

2 结果与分析

2.1 正常生理状态下不同耐热性茄子叶片叶肉细胞超微结构

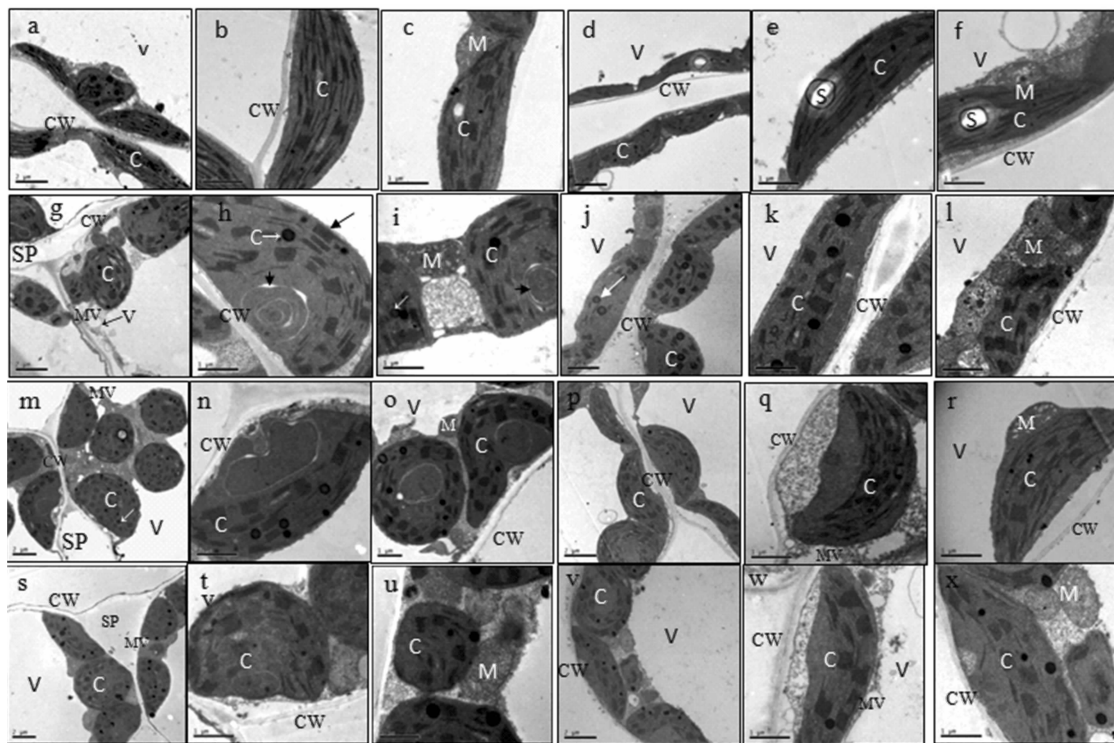
由图 1-a 可以看出,热敏品系 05-1 叶肉细胞结构正常,膜结构完整平滑、紧贴胞壁,细胞中央有大液泡,液泡周围是 1 薄层细胞质,细胞质内含有丰富的细胞器,叶绿体排列在细胞的周围。叶绿体呈椭圆形或梭形,被膜清晰,类囊体片层叠垛整齐,片层结构发达,叶绿体内有小的、少量的脂质小球(图 1-b、图 1-c)。线粒体近圆形,多分布于 2 个叶绿体交界处,双层膜完整,含有丰富的嵴(图 1-c)。耐热品系 05-4 叶肉细胞结构(图 1-d、图 1-e、图 1-f)类似于 05-1,但其叶绿体淀粉颗粒数量较多。

2.2 短期高温胁迫下不同耐热性茄子的叶片叶肉细胞超微结构

经热胁迫 2 h 后,热敏品系叶肉细胞与对照相比部分部位发生了明显的质壁分离,质壁分离处的质膜与液泡膜处出现膜被小泡(图 1-g 的黑色箭头);细胞质电子密度没有对照的大;叶绿体弯曲或膨大,叶绿体被膜变得不光滑,并出现断裂(图 1-h 的黑色箭头),脂质小球增多(图 1-h、图 1-i 的白色箭头);线粒体结构完整(图 1-i)。而耐热品系脂质小球增多(图 1-j 的白色箭头),叶绿体弯曲或膨大,但细胞结构基本正常(图 1-j、图 1-k、图 1-l)。

热胁迫 6 h 时,热敏品系叶肉细胞叶绿体继续膨大变圆,内部脂质小球增多(图 1-m 的白色箭头),叶绿体被膜出现不同程度的断裂、解体,类囊体片层由于叶绿体膨大而被拉长扭曲(图 1-n);线粒体嵴开始变得模糊(图 1-o)。耐热品系细胞也发生部分质壁分离,热胁迫降低了基质的电子密度,质膜与液泡膜处出现膜被小泡(图 1-q、图 1-r),叶绿体出现弯曲或膨大。

热胁迫 12 h 时,热敏品系细胞收缩严重,细胞间隙扩大,细胞质中被膜小泡增多(图 1-s)。由于基质大量外流,有的叶绿体内出现空洞,类囊体片层松散,结构紊乱(图 1-t);线粒体嵴和内膜数量减少或双层膜模糊,并逐渐解体,有些细胞的液泡膜被破坏(图 1-u)。耐热品系细胞也出现叶绿体继续膨大变圆的情况(图 1-v),叶绿体被膜出现部分断裂,



a-c—热敏品系 05-1 叶肉细胞结构,对照,示细胞壁、叶绿体和线粒体等结构正常;d-f—耐热品系 05-4 叶肉细胞结构;g-i—高温(43℃)处理 2 h 后的热敏品系叶肉细胞结构;j-l—高温处理 2 h 后的耐热品系叶肉细胞结构;m-o—高温胁迫 6 h 后的热敏品系的叶肉细胞结构;p-r—高温胁迫 6 h 后的耐热品系的叶肉细胞结构;s-u—高温胁迫 12 h 后的热敏品系的叶肉细胞结构;v-x—高温胁迫 12 h 后的耐热品系叶肉细胞结构。CW(cell wall)—细胞壁;C(chloroplast)—叶绿体;M(mitochondrion)—线粒体;MV(membrane-coating vacuole)—膜被小泡;V(vacuole)—液泡;SP(intercellular space)—细胞间隙;S(starch grains)—淀粉粒。黑色箭头所示为膜被小泡或被膜断裂;白色箭头所示为脂质小球

图1 高温胁迫下茄子叶肉细胞超微结构的变化

类囊片层由于叶绿体膨大而被拉长,线粒体嵴开始变得模糊(图1-w、图1-x),但细胞结构仍然完整。

3 讨论

王洪春综合分析了各种胁迫条件下植物的生理生化反应,认为质膜的生理生化和物理等特性的变化是植物抗性生理最初和最基本的反应^[7]。耐热品系与热敏品系分别在热胁迫6.2 h时叶肉细胞发生质壁分离,并且质壁分离处的质膜与液泡膜处出现大量膜被小泡,这与在豇豆的组织培养细胞和小麦受到热处理时观察到液泡膜和质膜上形成的泡状物相似^[8-9],这是受到热胁迫时细胞出现的较早的结构变化,这一现象有可能作为细胞受到胁迫时的超微结构指标。推测这是脂类脱离膜而形成一些液泡化的小囊泡,从而破坏膜的结构,导致膜丧失选择透性与主动吸收的特性,使膜透性增大^[10]。但是,对于小泡的形成机制有待今后的进一步研究。

叶绿体是植物细胞中对热胁迫比较敏感的细胞器。在高温胁迫下,热敏品系比耐热品系较早出现叶绿体趋于变圆并转移至细胞中间,叶绿体被膜出现不同程度的断裂、解体,类囊体片层膨胀松散。并且2个品系在热胁迫下叶绿体内都出现数量多、体积大的质体球体,这些现象与马晓娣等观察到的结果一致^[9,11-13]。这是细胞遭受高温等逆境胁迫时的又一特征性变化,这与在其他逆境、黄化和衰老叶片中观察到的结果相似^[14-15]。在高温胁迫下,作为一种代谢产物,质体球体的逐渐增多,预示着细胞的衰老和解体。可见,造成茄子叶片光合作用降低的一个重要原因可能就是叶片叶绿体超微结构的变化和损伤。热胁迫下2个品系叶片中叶绿体淀粉颗粒均减少甚至消失,这种现象在与豇豆(*Vigna unguicula*)的组织培养细胞、菜豆幼苗和番茄花期受到热处理时观察到的质体内淀粉颗粒的变化^[8,13,16]一致。

此外,本试验观察到在叶肉细胞中,叶绿体对高温最敏感,叶绿体遭到破坏解体的时间早于线粒体,这与大多数研究者认为的在逆境条件下线粒体比叶绿体结构更稳定的结论相同^[11,16-18],但在小麦上也有相反的报道^[7],也许是由于小麦叶片在离体条件下受到了热胁迫。其相对稳定的线粒体结构,有利于利用贮藏同化产物进行呼吸消耗,提供能量以维系细胞最基本的生命活动,不会引起细胞迅速崩溃死亡,从而使得植物在逆境解除后得以恢复生长^[18]。同时也说明,在逆境情况下,植物首先是降解自身储备的营养物质,但“能量加工厂”线粒体被破坏时,植物将无法恢复生存能力。在叶绿体中,类囊体膜在热胁迫下表现出排列紊乱,这与关于叶绿体在高温胁迫下导致光合反应的热失活是在不耐热的类囊体膜上的观点一致^[11,19]。同时,笔者观察到叶绿体被膜却比类囊体膜解体时间更早,叶绿体被膜对热胁迫更为敏感的原因有待进一步研究。热敏品系比耐热品系较早出现超微结构的变化,这也与证明了笔者前期测定耐热品系较高含量的AsA(抗坏血酸)、GSH(谷胱甘肽)和可溶性糖^[20]对细胞膜的完整性和细胞正常功能的保护作用。

综合分析可知,不同耐热性品系的质膜、叶绿体及线粒体在高温胁迫过程中的超微结构变化是其耐热性差异的重要基础,可以作为茄子耐热性评价的结构指标,用于不同基因型茄

子耐热资源的筛选。

参考文献:

- [1]王炳天. 茄子高产栽培[M]. 北京:金盾出版社,1992:10-12.
- [2]李植良,孙保娟,罗少波,等. 高温胁迫下华南茄子的耐热性表现及其鉴定指标的筛选[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(2):244-248.
- [3]孙保娟,黎振兴,罗少波,等. 持续高温胁迫对茄子幼苗几个主要生理指标的影响[J]. 热带作物学报,2010,31(9):1528-1534.
- [4]贾开志,陈贵林. 高温胁迫下不同茄子品种幼苗耐热性研究[J]. 生态学杂志,2005,24(4):398-401.
- [5]张宗中,利容千,王建波. 外源 Ca^{2+} 预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、ASA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 植物生态学报,2001,25(2):230-234.
- [6]李正理. 植物制片技术[M]. 北京:科学出版社,1978:76-94.
- [7]王洪春. 植物抗性生理[J]. 植物生理学通讯,1981,6:72-81.
- [8]Dylewski D P, Singh N K, Cherry J H. Effects of heat shock and thermoadaptation on the ultrastructure of cowpea (*Vigna unguiculata*) cells[J]. Protoplasma,1991,163(2/3):125-135.
- [9]马晓娣,王丽,汪矛,等. 不同耐热性小麦品种在热锻炼和热胁迫下叶片相对电导率及超微结构的差异[J]. 中国农业大学学报,2003,8(5):4-8.
- [10]Percy R W. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of the leaf lipid in *Artemisia lentiformis* (Torr.) Wats. [J]. Plant Physiol,1978,61(4):484-486.
- [11]苗琛,利容千,王建波. 热胁迫下不结球白菜和甘蓝叶片组织结构的变化[J]. 武汉植物学研究,1994,12(3):207-211.
- [12]王冬梅,许向阳,李景富,等. 热胁迫对番茄叶肉细胞叶绿体超微结构的影响[J]. 园艺学报,2004,31(6):820-821.
- [13]张洁,李天来. 日光温室亚高温对番茄光合作用及叶绿体超微结构的影响[J]. 园艺学报,2005,32(4):614-619.
- [14]Tkalec M, Prebeg T, Roje V, et al. Cadmium-induced responses in duckweed *Lemna minor* L [J]. Acta Physiol Plant,2008,30(6):881-890.
- [15]刘林,李明泽,王怀中,等. 不同发育时期板栗叶肉细胞中叶绿体淀粉和质体小球的变化[J]. 果树学报,2010,27(1):131-134.
- [16]王光耀,张仪,余炳生,等. 高温对菜豆叶绿体超微结构及其贮存物质的影响[J]. 农业生物技术学报,1997,5(1):91-94.
- [17]Ristic Z, Caas D D. Chloroplast structure after water and high temperature stress in two lines of maize that differ in endogenous levels of abscisic acid [J]. Int J Plant Sci,1992,153(2):186-196.
- [18]向珣,宋洪元,李成琼. 热胁迫下甘蓝细胞膜叶绿体线粒体超微结构研究[J]. 西南农业大学学报,2001,23(6):542-543.
- [19]Santarius K A M, Exner R, Thebud-Lassak R. Effects of high temperature on the photosynthetic apparatus in isolated mesophyll protoplasts of *Valerianella locusta* (L.) [J]. Betacke Photosynth, 1991,25(1):17-26.
- [20]李艳艳,王俊青,李植良,等. 短期高温胁迫对茄子主要生理指标及叶片解剖结构的的影响[J]. 热带作物学报,2016,37(9):1774-1780.