

水稻秧苗冷害叶片细胞亚显微结构观察*

黄 湛

(农学系)

提 要

对籼稻品种庆元2号、广陆矮4号和桂朝2号作人工低温处理和自然低温鉴定。试验结果,庆元2号苗期耐寒性最强;广陆矮4号次之;桂朝2号耐寒性较差。同时,分别对叶片细胞亚显微结构进行观察。经自然低温冷害后,叶片由绿变白,但恢复正常生长的温度后,叶片又由白逐渐转绿。在这个过程中,耐寒性较强的品种(庆元2号和广陆矮4号)恢复生长较快,恢复能力较强。其叶片细胞亚显微结构表现出明显的变化:叶绿体片层排列方向发生改变,叶绿体内出现轻度空泡,但叶绿体的外部被膜仍保持完整,细胞核的染色质凝集成较大的质块,但均匀分散,核膜仍保持完整,这些变化是可逆的;不耐寒的品种(桂朝2号)或低温过低,或低温持续时间过长,叶片细胞的细微结构严重被破坏,尤其膜结构受破坏,叶绿体大量解体,出现大量空泡,这些变化是不可逆的,往往导致叶片枯黄,植株死亡。另外,在正常叶片中,可见细胞与细胞之间的胞间层积聚着浓密物质,两个细胞通过胞间连丝在进行物质交换,经低温处理后,胞间连丝即行消失。

引 言

水稻原产热带,是一种喜温作物。在一般栽培条件下,低温冷害是烂秧的主要诱发因素。在较长时间的低温影响下,严重抑制秧苗正常的新陈代谢,光合作用被削弱,整个植物体处在一个消耗的状态,地上部干重和根系体积都显著下降^[1]。这些生理变化,必将反映内部结构的变化。在低温影响下,前质体和叶绿体首先表现出明显的变化^[2]。Kimball等^[3]提出叶绿体是对低温反应最敏感的细胞器。本实验是在过去我们对水稻冷害生态生理研究的基础上,进一步探讨低温影响下叶片细胞内部结构的变化。

* 本文承吴灼年教授审阅,并由本院电镜室协助完成,特此致谢!

材 料 和 方 法

(一) 材料 籼稻品种广陆矮4号和桂朝2号是广东省农科院育成的推广面积比较大的品种之一, 籼稻品种庆元2号是浙江省庆元县农科所育成的较为耐寒的推广良种。

(二) 供试品种耐寒性鉴定 为了进一步确定供试品种耐寒性差异, 将供试品种放在人工气候室进行鉴定。处理条件: 温度日平均 7.5°C , 最高 10°C , 最低 5°C ; 光照6000勒克斯(每天11小时); 空气相对湿度85~95%。处理时间72小时。低温处理时秧苗叶片4.0~4.2片。均采用统一的试验土壤盆栽育苗, 选取生长一致的秧苗进行处理。同时, 将供试品种育苗后放在正常的烂秧天气(1981年广州地区天气, 从2月24日至3月5日, 共10天平均, 日平均气温 12.3°C , 最低 9.6°C , 空气相对湿度85%, 仅3月5日一天的日照时数为6小时, 其余为零)进行自然鉴定。

(三) 电镜标本的制作方法 切取最上全出叶的叶片中上部位1平方毫米左右的样块(除去叶片中脉), 用pH7.4的磷酸缓冲液配制成的4%戊二醛溶液, 在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 下固定, 一般4~12小时, 边固定边在真空干燥器内抽气。每次抽气20分钟, 抽气2~3次。然后选取下沉的样块用磷酸缓冲液冲洗3~4次, 放入2%锇酸固定, 在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 下固定3~4小时。取出, 用磷酸缓冲液冲洗3~4次, 便进入酒精脱水, 每级酒精处理30分钟, 经各级酒精浓度顺序脱水后, 采用618环氧树脂包埋, 包埋聚合后, 用奥地利OMU₄型超薄切片机切片。并采用双染法染色, 染色后用荷兰飞利浦EM400型电镜观察并照相。

实 验 结 果

(一) 几个供试品种耐寒性鉴定 在自然低温和在人工低温处理, 结果是一致的。在人工低温处理72小时, 庆元2号死苗率6.3%; 广陆矮4号死苗率29%; 桂朝2号死苗率66.7%。说明几个品种苗期的耐寒性有明显差异: 庆元2号>广陆矮4号>桂朝2号。

(二) 叶肉细胞的结构 水稻叶片叶肉细胞的细胞壁向内皱折, 峰谷起伏, 属皱折状。正常叶片的叶肉细胞充满叶绿体, 在低温影响下的叶肉细胞叶绿体严重被破坏, 大量解体, 细胞中间出现空泡或空洞, 耐寒性品种仅保留靠近细胞壁部分叶绿体。如绝对低温过低, 连续低温时间过长, 耐寒性品种也无法忍耐下去, 叶绿体彻底解体, 以致叶片枯黄死苗。图1、2、3。

(三) 叶绿体的结构 水稻正常叶片的叶绿体为球状椭圆形, 外为双层膜所包围, 膜内为溶胶状蛋白质基质, 基质分布着基粒, 基粒由若干片扁平、园形的囊, 即类囊体

叠成。基粒与基粒之间，由基质片层连接起来。如图 4、5。在低温影响下的叶绿体片层排列方向发生改变，基粒片层堆叠紧密。进一步叶绿体内出现空泡，再进而叶绿体大量解体，空泡大量出现，并连成大的空洞。这个时候，耐寒品种与不耐寒品种的区别，在于前者还保留叶绿体的外部被膜和少量的基粒片层。因此，从外部形态看，叶片还带点青绿色。这种情况是可逆的变化，经恢复正常生长的温度后，植株可以慢慢的恢复生长，不致死苗。如叶绿体外部被膜被破坏，叶绿体彻底解体，叶片即变黄枯死，这就变成不可逆的变化。图 6、7、8、9。

(四) 细胞核的结构 在低温影响下，叶肉细胞细胞核的染色质凝集成较大的质块，这些质块成均匀分散状态，核的双层膜仍保持完整，这是耐寒品种可逆变化的一种表现。图 10、11、12。如果核膜被破坏，核内出现空泡，就是不可逆的了。

(五) 胞间结构 在正常叶片中，可见到叶肉细胞之间的胞间层积聚着浓密物质，两个细胞之间通过胞间连丝进行物质交换。图 13、14。但经低温处理后，胞间连丝即行消失。图 15。

讨 论

从上述试验结果表明，在经过自然低温或者在人工低温处理后的水稻秧苗，叶片细胞亚显微结构发生明显的变化。从外表看，即使还保持有些青绿的叶片，其内部结构亦发生了很大的变化。还发现叶绿体受害引起的变化尤为明显。叶绿体的变化又突出表现在类囊体方面。叶绿素是存在于类囊体膜中，光反应是在囊片中进行的^[4]。因此，当秧苗受低温冷害后，由于直接破坏了类囊体，就必然影响叶绿素和光反应的正常进行，从而减弱光合作用强度，减少光合产物的生成，最后导致植株干重和根系体积的下降。简令成等（1965）在冬小麦的研究指出，在低温影响下，前质体和叶绿体首先表现出明显的变化，和 Kimball 等（1973）提出叶绿体是对低温反应最敏感的细胞器。与我们在水稻做的试验结果相同。

作物受低温冷害所引起的破坏程度以及品种耐寒性的差异，决定于细胞膜结构的伤害程度。在低温影响下，首先降低了膜的流动性，从而导致细胞表面（质膜）的三磷酸腺苷酶（ATP 酶）的失活^[3]。结果使植物体细胞对物质的主动吸收和运输能力降低；同时，使物质的被动转移和渗透增加，这样一来，细胞失去膨压，水分散失，溶质外渗，引起植株萎蔫。这种现象在寒潮突然到来，降温急剧时，表现尤为突出。如果低温持续时间过长，膜结构受破坏，萎蔫了的植株，即使恢复了正常的生长条件，也不能复原。实验结果，不同耐寒品种在细胞学方面的表现，我们认为可作为水稻苗期品种耐寒性鉴定的一种依据。

另外，董合铸等（1980）报道，小麦植株经冻后，线粒体则表现出相对的稳定^[5]。在本实验的观察中，发现也有类似情况。在低温影响下，最先受到伤害的是叶绿体，线粒体表现较稳定，线粒体的双层膜一般不易被破坏，只有线粒体内的嵴受轻微伤害。

参 考 文 献

- [1] 华南农学院植物生长室, 1979, 早稻烂秧原因及其防止途径, 《广东农业科学》, 1 : 28—33。
- [2] 简令成、吴素萱, 1965, 植物抗寒性的细胞学研究——小麦越冬过程中细胞结构形态的变化, 《植物学报》, 13 : —16。
- [3] 简令成, 1980, 植物的寒害与抗寒性, 《植物杂志》第六期。
- [4] E·J安布罗斯, D·M·伊斯蒂, 1978, 细胞生物学, 科学出版社版, 143。
- [5] 董合铸等, 1980, 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, 《植物学报》, 第22卷, 第4期。
- [6] Kimdall, S·L, and F·B, Salisdury, 1973 : Vltrastructural changes of plamts exposed to low temperature, Amer.J.B.t., 60:1028—1033.

OBSERVATION ON THE SUBMICROSCOPIC STRUCTURES OF THE RICE SEEDLINGS LEAF CELLS, SUBJECTED BY THE COLD INJURY

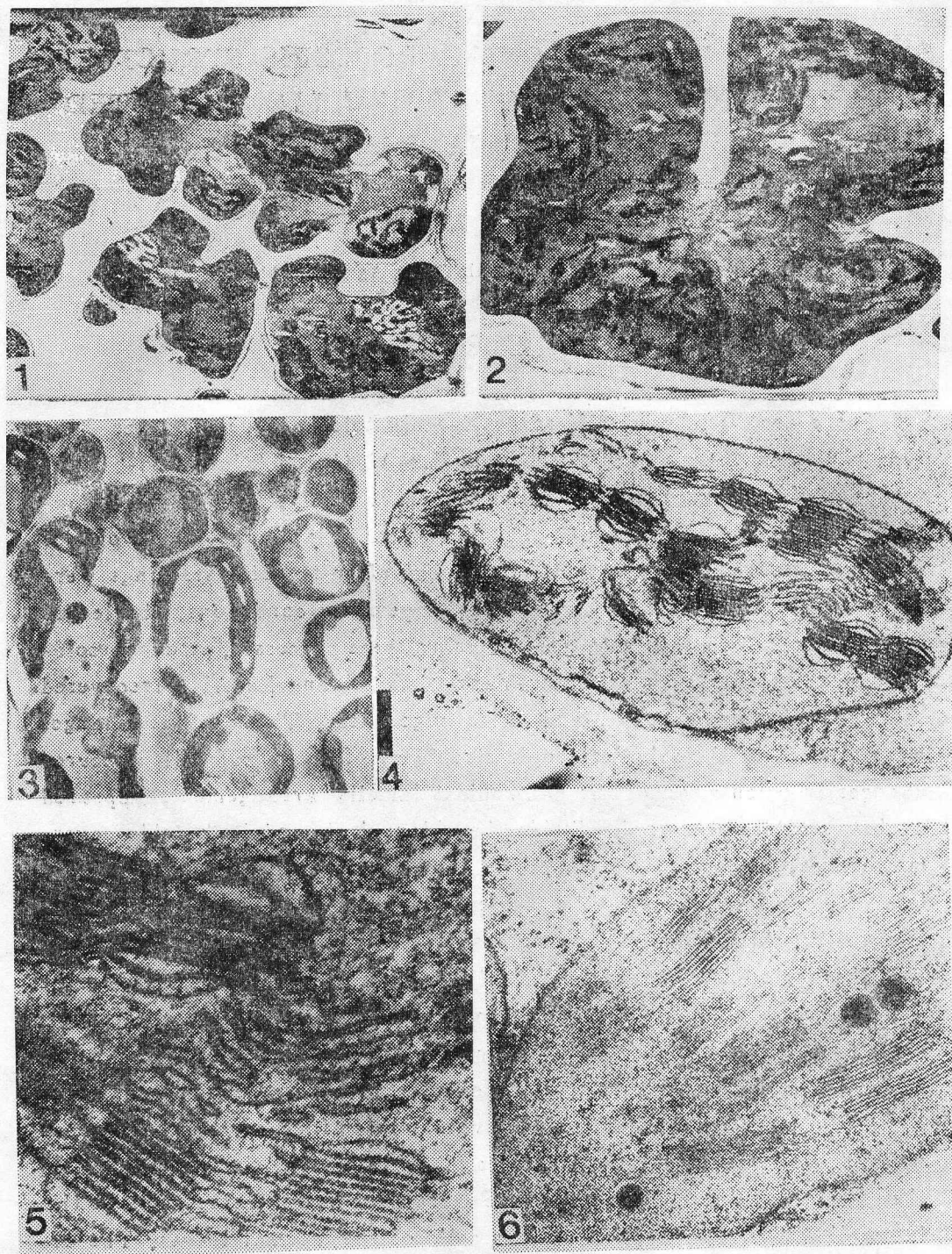
Huang Zhan

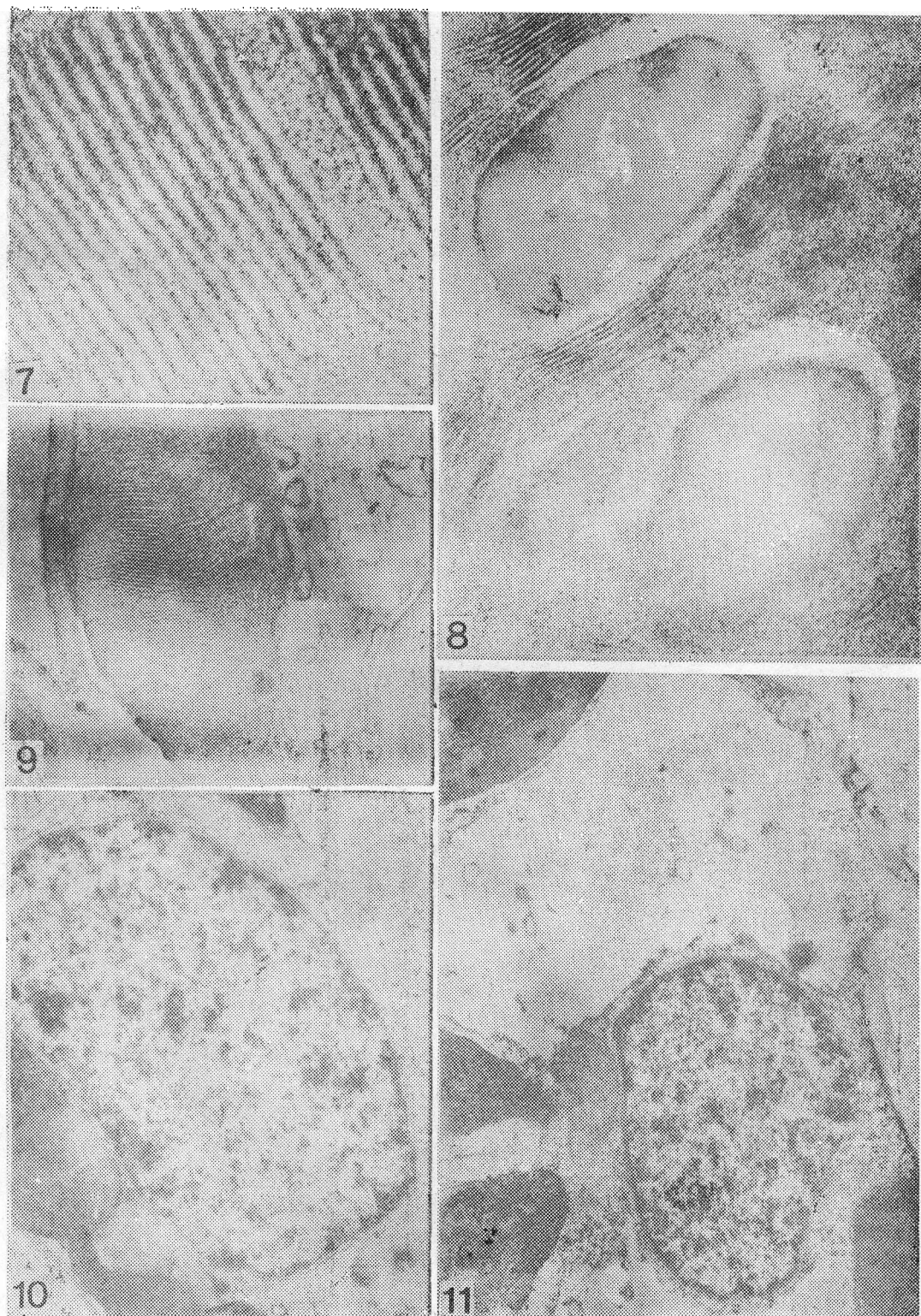
(Department of Agronomy, South China Agricultural College)

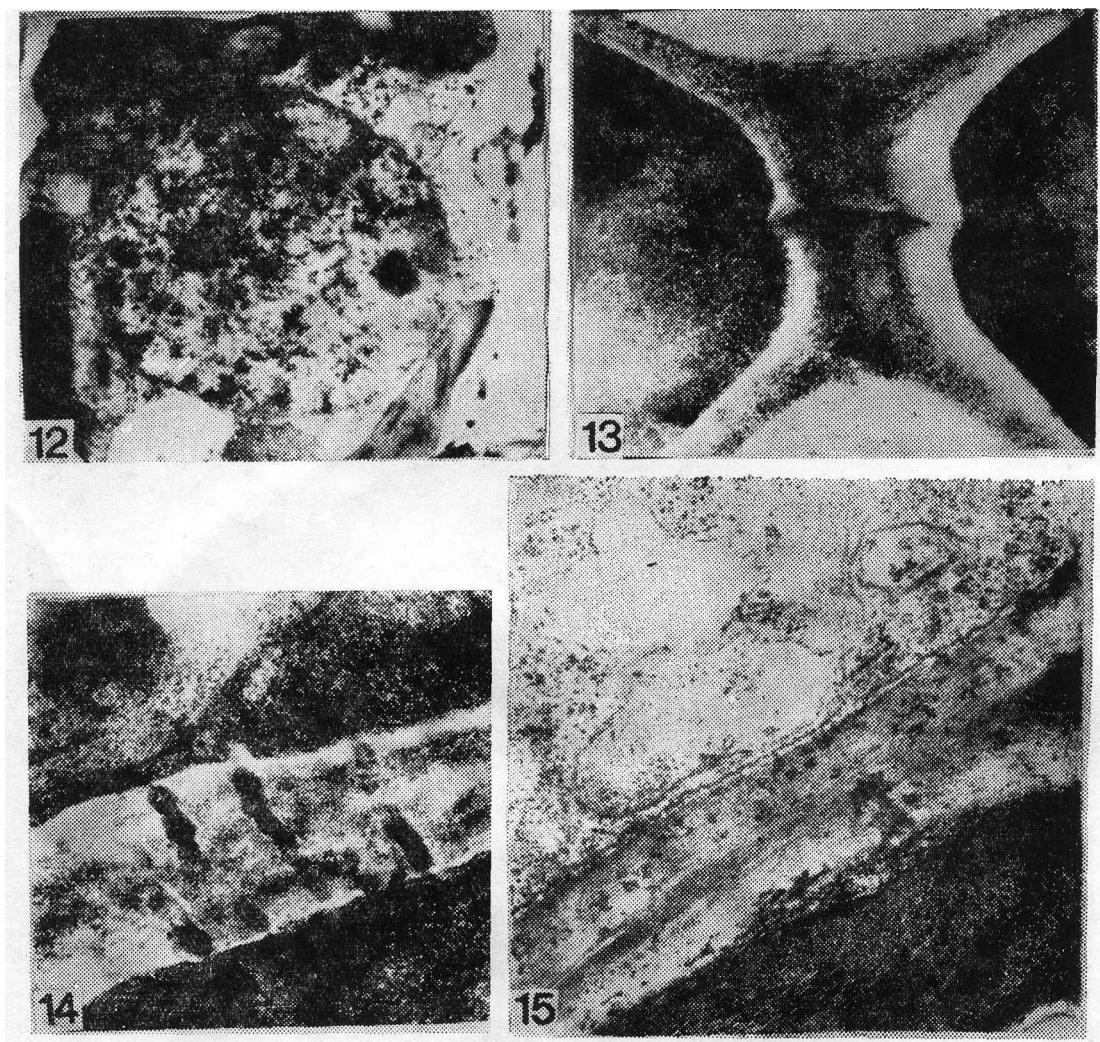
ABSTRACT

There are significant differences in cold tolerance between the Xian type varieties "Qing-Yang-2", "Guang-Lu-Ai-4" and "Gui-Chao-2", the sequence of tolerance as: "Qing-Yang-2" > "Guang-Lu-Ai-4" > "Gui-Chao-2". After the cold injury under the natural conditions, the leaves of rice seedlings changed from green to white, but after the rice seedlings were transported into the normal growing temperature conditions, the leaves were changed from white to green. During these processes, stronger cold-tolerance varieties (such as "Qing-Yang-2" and "Guang-Lu-Ai-4") recovered their growth more speedily, and more vigorously. The obvious changes were showed in the submicroscopic structures of their leaf cells: occurred changes in orientation of the chloroplast lamellae arrangement, appeared unclear and slight vacuoles inside the chloroplast, and its outside cover-membrance, however, is intact. The unclear chromatin was coagulated into a larger mass, and the nuclear membrane still remained their integrality. These changes are reversed.

The low cold-tolerance varieties (such as "Gui-Chao-2") due to the temperature too low, or the low temperature last too long, the microscopic structures of leaf cells, especially the membrane structures were subjected by serious destruction, the chloroplasts were decomposed, large amount of vacuoles were appeared even more to form several huge vacuancies. These changes are unreversed, and often resulted in the leaf wilted then the plant death. Besides, there were accumulated dense mass in the intercellular layers between various cells of the normal leaves. The active matter exchanges took place in the two neighbour cells through the plasmodesma, but after treatment of the low temperature, this phenomenon disappeared immediately.







附 图 说 明

- 图1 水稻秧苗正常叶片叶肉细胞 ($\times 3000$)
 图2 水稻秧苗正常叶片叶肉细胞的一部分 ($\times 6,450$)
 图3 自然低温下水稻叶片叶肉细胞 ($\times 2,828$)
 图4 水稻秧苗正常叶片叶绿体 ($\times 13,910$)
 图5 水稻秧苗正常叶片叶绿体的基粒和基质片层 ($\times 39,000$)
 图6 自然低温下水稻叶片层绿体排列 ($\times 30,000$)
 图7 自然低温下水稻叶绿体片层排列, 基粒片层堆叠紧密 ($\times 110,000$)
 图8 自然低温下水稻叶绿体解体和空泡 ($\times 39,000$)
 图9 自然低温下水稻叶绿体进一步解体后连成较大空洞 ($\times 30,000$)
 图10 自然低温下水稻叶肉细胞细胞核部分染色质凝集成较大的染色质块 ($\times 14,000$)
 图11 自然低温下水稻叶肉细胞核染色质凝集成的染色质块仍保持分散状态 ($\times 11,000$)
 图12 自然低温处理后期, 水稻叶肉细胞核变圆, 核膜存在, 染色质块仍保持分散状态 ($\times 14,000$)
 图13 水稻正常叶片叶肉细胞胞间结构 ($\times 39,000$)
 图14 水稻正常叶片叶肉细胞胞间结构 ($\times 50,000$)
 图15 自然低温下水稻叶肉细胞胞间结构 ($\times 30,000$)