伊贝母鳞茎层积过程中核酸及超微 结构的变化

刘 伟 王文杰2

(1 华南农业大学农业生物系,广州,510642; 2 西北大学生物系)

摘要 采用5℃层积下的伊贝母鳞茎,进行了核酸含量及更新芽超显微结构变化的研究。发现了伊贝母鳞茎休眠解除过程中的一些规律性变化。两次RNA的积累时期,恰与电镜制片观察到的核糖体增加的时期相一致。还观察到了细胞中液泡、前质体的一些变化规律,并发现其与一些植物由营养生长锥向生殖生长锥转化时期所发生的变化相似。

关键词 伊贝母;鳞茎;层积;核酸;超微结构

中图分类号 Q945.35

伊贝母(Fritillaria pallidiflora Schrenk.)为百合科贝母属多年生草本植物,其鳞茎为常用中药材,近年来需求量逐增。但由于伊贝母地上生活期短,仅80~90d,之后需要一个100d左右的低温过程,才能解除休眠,再次萌发(朱四易等,1980;愈永信,1983;李春俭,1987),造成了生长周期长,产量低的特点。人为缩短其休眠期,是提高产量的有效方法,此方面虽已有一些报道,但关于伊贝母鳞茎休眠解除过程中核酸含量及细胞超显微结构变化方面的研究甚少。本文的研究结果,也为尽快解决贝母休眠问题,达到速生高产的目的,提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料于 1988年 8 月取自陕西省太白山贝母试验站, 为一年生更新芽发育完全的子鳞茎, 由于一年生鳞茎萌发后只形成一片叶, 因此其更新芽实为一幼叶。子鳞茎百粒鲜重 20 g。

1.2 试验方法

供试材料用水冲去泥土,2%甲醛消毒30 min,流水冲净,凉干表面水分,与沙土混合人冰箱,在5℃下进行层积处理。在层积开始后的第0,20,40,60,80和100d取样,剥取更新芽。部分于-20℃固定保存,用于DNA和RNA含量的测定,测定方法参考J.H彻里(1979),另一部分进行电镜制片,将其切成1 mm³的小块,用3.5%戊二醛配合1%锇酸在4℃下双重固定,乙醇脱水,丙酮树酯渗透,Epon812树脂包埋剂包埋,LKB切片机切片,厚度700~900Å,醋酸柠檬酸铅染色,透射电子显微镜下观察拍照。

1995-03-23 收稿

2 结果与分析

2.1 DNA 含量的变化

从图 1 中可以看出,在层积第 40 d 时,有一个 DNA 含量的低谷,形态学观察发现此阶段为更新芽伸长迅速,但又未发现细胞分裂,而细胞体积的增大,很可能是造成 DNA 含量下降的主要原因。在第 40 d 后 DNA 含量上升,至第 60 d 时达到高峰。在进行超微结构研究时,发现第 40 d 后细胞中的前质体和线粒体分裂,且前质体数量增加迅速,这可能是造成细胞中 DNA 含量上升的主要原因。本试验所测得的 DNA 的变化规律与梅

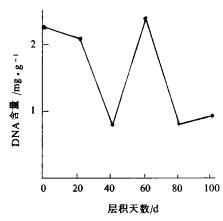


图 1 层积过程中 DNA 含量的变化

泽沛等(1964)在低温处理结球白菜时所得到的结果不同,可能这两种植物对低温处理具有不同的生理反应。

2.2 RNA 含量的变化

从试验结果(图 2)可以看出,在整个层积过程中 RNA 的含量出现两次明显的高峰。1次出现在层积开始后第 40 d 前后,第 2次是在层积第 80 d 左右。RNA 含量在总体上呈增加趋势,在层积结束时(第 100 d)有所下降。这与周如珍(1986)在对拟南芥菜进行低温处理时所测得的 RNA 含量变化规律相似。在一定程度上,RNA 含量的增加,表示着细胞中蛋白质合成能力的增强,表明了植物休眠的解除,也是一个生理活动较为活跃的过程。而两个 RNA 含量高峰的出现,很可能暗示了伊贝母鳞茎休眠解除过程具有一定的阶段性。

2.3 超显微结构的变化

在层积过程,细胞中的液泡由大变小,并逐步分散于细胞质中(图版 I $1 \sim 6$)。前质体的发育过程明显,层积开始时,前质体数量少,体积小,层积开始后数量逐渐增加,第 40 d 后,分裂增殖速度加快,到层积将结束时(第 $80 \sim 100$ d),细胞中已具有大量的前质体(图版 I 5,6),除可见明显的内膜系统外,还可见前质体内明显的晶格状原片层结构(图

版 I 5,6) 说明此阶段是前质体内膜系统迅速发育的时期。在层积开始之前,细胞质的电子密度较大,可见细胞质中较为丰富的核糖体颗粒。到层积第20d时,细胞质中核糖体颗粒明显减少,至第40d时又有所增加,第60d时又明显减少,细胞质电子密度下降,到层积将要结来的第80d和第100d时,细胞中又出现了大量的核糖体颗粒(图版 II 1~6)。层积过程中,未发现内质网系统的明显变化。线粒体在数量上和内膜系统的发育上变化不明显。

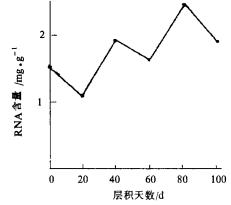


图 2 层积过程中 RNA 含量的变化

3 讨论

3.1 从 DNA 含量的变化过程来看,在层积第 40 d 到第 60 d 有一个明显升高的过程,因未观察到细胞分裂的发生,而发现了此时期前质体和线粒体的分裂增殖,认为这种 DNA 含量的上升,可能与线粒体和前质体的分裂增殖有关。同时,大量光合细胞器前体的出现,也间接的体现了休眠程度的降低。层积第 20 d 到 40 d,以及第 80 d 后 DNA 含量的下降,则很可能是由于细胞体积增加而引起的。在更新芽的形态学观察中,我们也发现了此阶段更新芽生长较为迅速。

3.2 RNA 含量在层积过程中的两个明显高峰,与电镜观察到的核糖体数量的增加在时间上相一致,因此认为这种 RNA 含量的升高,是由于新生成核糖体数量的增加,以及相应的蛋白质合成过程中 mRNA 和 tRNA 含量的增加所造成的。新的核糖体的形成,往往表现了新蛋白质合成过程的出现。

Harelange等(1974)曾发现一些植物由营养生长锥向生殖生长锥转化时,细胞器发生明显变化。如牵牛、苍耳等细胞内的质体数量增加,液泡分散变小,核糖体数量增加等。在伊贝鳞茎休眠解除的过程中,我们观察到了更新芽细胞发生了类似的变化,表现出两种不同的生理过程具有一定的内在相似性。层积过程中,伊贝母鳞茎更新芽细胞的超显微结构变化明显,但以核糖体数量的变化最引人注意;在接受低温刺激后,核糖体数量减少,之后又有所增加。这可能是伊贝母鳞茎接受低温刺激后,代谢过程转变的一种表现。原有的核糖体消失了,随之又产生了新的核糖体,这在一定程度上反映了低温刺激了新的酶系统和蛋白质的产生。在第60 d 时核糖体数量和 RNA 含量再次下降,可能是新的酶系统和蛋白质合成结束的结果。在此之后的一段时间里,由新酶系统的参加,细胞中很可能进行着某一种或数种物质的积累或分解过程。一些研究结果发现了某些植物鳞茎在层积第20 d 后赤霉素的积累(Ryszark et al,1976),而赤霉素(或其他植物激素)又很可能是后一个代谢活跃阶段的刺激物,当其在植物细胞中积累到一定程度时,便导致了层积后期代谢过程的发生,致使鳞茎休眠过程的彻底结束(Amen,1968)。这一结果的正确性,还有待于进一步的研究和探讨。

参 考 文 献

朱四易, 胡正海, 宇文强. 1980. 伊贝母生长发育年周期的研究. 植物学报, 22(1): 22~26

李春俭,秦振栋. 1987. 低温处理过程中伊贝母鳞茎中若干生理变化与休眠解除的关系. 西北植物学报, 7(1): 23~28

彻里 JH著.1979. 植物分子生物学实验指导. 崔徽译. 北京: 科学出版社, 78~82

周如珍. 1986. 低温处理对植物体的有效影响. 江西科学, 4(2): 64~68

愈永信, 陈传群. 1983. 解除浙贝母种子和鳞茎休眠方法的研究. 浙江农业科学, (5): 257 ~ 261

梅泽沛,罗金陵,邱成武. 1964. 结球白菜种子春化过程胚组织内核糖核酸与去氧核糖核酸含量的变化.吉林农业科学, 1(3): 87~90

Amen R D. 1968. Amodel of seed dormancy. Bot Rev, 34(1): 1~31

Havelange A, Beriner G. 1974. Descriptive and guantitative study of ultrastructural changes in the apical meristem in transition to flowering. J Cell Sci, 15(3): 633 ~ 644

Ryszard M, Nowak J. 1976. Studies on the physiology of Hyacinth Bulbs. J Exp Bot, 27(97): 303 ~ 313

