

甘蓝幼苗叶片超微结构及细胞内 Ca^{2+} 分布对低温的响应

曾爱松¹, 严继勇¹, 宋立晓¹, 高兵¹, 冯翠²

(1. 江苏省农业科学院 蔬菜研究所, 江苏 南京 210014; 2. 南京农业大学 园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要:探讨低温胁迫下甘蓝叶片细胞超微结构特征、细胞内 Ca^{2+} 分布变化及品种间差异,为越冬甘蓝的耐寒性机理研究及耐寒品种选育提供理论依据。采用低温培养箱模拟逆境条件处理甘蓝幼苗,研究其对甘蓝叶片细胞超微结构及细胞内 Ca^{2+} 分布的影响并比较了品种间差异。5℃低温处理时,甘蓝叶片大多数细胞器基本无损,排列有序,表明耐冷材料和冷敏材料均能适应5℃低温环境。在-3℃低温胁迫下,耐冷材料叶片超微结构破坏较小,而冷敏材料叶绿体结构破坏严重,基粒片层断裂、降解;线粒体多数扭曲变形,已无明显内脊。对照生长条件下(25/18℃),甘蓝幼苗叶肉细胞内 Ca^{2+} 主要出现在液泡和细胞间隙中,细胞壁、细胞核中也有少量钙沉淀存在。在-3℃低温处理24 h后,耐冷材料细胞质和细胞核中的 Ca^{2+} 浓度明显增加,冷敏材料细胞质中 Ca^{2+} 也有增加,但较耐冷材料少。在低温处理24~72 h的过程中,耐冷材料细胞内增加的 Ca^{2+} 浓度迅速降低,并恢复至处理前状态;而此阶段内冷敏材料因其细胞结构遭到严重破坏,细胞质中的 Ca^{2+} 浓度升高到最大值后,无法恢复至稳定状态。低温胁迫下甘蓝叶片的超微结构特征及细胞内 Ca^{2+} 行为特征表现显著差异,表明甘蓝叶片的超微结构特征及 Ca^{2+} 分布变化与其抗寒性存在一定关系。

关键词:低温;甘蓝;超微结构; Ca^{2+} 分布

中图分类号:S635.01

文献标识码:A

文章编号:1000-7091(2011)06-0129-07

Response of Ultrastructure and Ca^{2+} Distribution to Low Temperature in Leaves of Cabbage Seedlings

ZENG Ai-song¹, YAN Ji-yong¹, SONG Li-xiao¹, GAO Bing¹, FENG Cui²

(1. Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The objective of the study is to investigate the effects of low temperature stress on the leaf ultrastructure and Ca^{2+} distribution of various cabbage varieties and to find the different response mechanisms between them. The seedlings were treated separately under adverse temperature conditions in growth chambers, and the effects on cell ultrastructure and Ca^{2+} distribution of cabbage leaves under low temperature stress were studied, and various cabbage varieties was compared. Under 5℃ cold stress, most leaf cell organelles of cabbage were not injured and orderly arranged. This suggested that both cabbage varieties adapted to 5℃ cold stress. Under -3℃ cold stress, the ultrastructure of leaf cell in cold-resistant lines had little destructiveness, whereas the grana lamella of leaf cell in cold-sensitive lines were disorganized and mitochondrion's cristae could not be found. Under optimum temperature (25/18℃) conditions, calcium antimonite deposits, which indicates calcium distribution, were mainly localized in vacuoles and intercellular space, and few was found in cell wall or nucleus. At controlled temperature of -3℃ for 24 h, an elevation of Ca^{2+} level in the cytosol and nucleus was observed in two varieties, whereas the cold-sensitive lines had few than cold-resistant lines. By chilling up to 48 and 72 h, the intracellular Ca^{2+} concentration had been restored to a similar low level as the status as treatment before. On the contrary, the Ca^{2+} concentration of the cold-sensitive variety increased continuously to the maximal level within the whole range of temperature changes. This study indica-

收稿日期:2011-09-20

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(09)604; CX(11)1006)

作者简介:曾爱松(1977-),女,山东菏泽人,硕士,主要从事甘蓝遗传与生物技术育种研究。

通讯作者:严继勇(1963-),男,江苏姜堰人,研究员,博士,主要从事甘蓝类蔬菜遗传育种研究。

ted that there were distinctive differences between the cabbage species in cell ultrastructure and Ca^{2+} distribution. It could be seen that cabbage cold-hardiness was related to the changes in cell ultrastructure and Ca^{2+} distribution.

Key words: Cold temperature; Cabbage; Cell ultrastructure; Ca^{2+} distribution

由于蔬菜周年生产和消费的需求,在长江流域及其以南地区,露地越冬甘蓝面积迅速扩大,尤其在江苏、上海、湖北、湖南等地已形成相当生产规模,是当地冬季种植的主要蔬菜品种之一。结球越冬甘蓝多于春节前后开始采收,此时正值一年中温度最低的时期,使得甘蓝经常遭受低温甚至零下低温的影响,造成产量和品质下降,低温成为越冬甘蓝栽培及推广的制约因素。

低温胁迫会使植物细胞的超微结构发生变化,其中叶绿体、线粒体是对低温比较敏感的两个细胞器,而质膜则是低温伤害的首要部位,三者的变化与植物抗寒性密切相关,对于解释植物对于低温的适应性具有重要意义^[1]。 Ca^{2+} 作为偶联胞外信号与胞内生理生化反应的胞内第二信使,它在植物体内的分布及浓度变化调节着许多代谢和发育过程^[2]。越来越多的证据表明,细胞内 Ca^{2+} 在植物对植物感应、传递抗寒信号和产生生理响应过程中起着重要的作用^[3-6]。郑丽梅等^[7]研究发现,耐低温不同黄瓜品系在受到低温胁迫时,耐低温品系细胞内部调节能力较强,冷敏感品系则相对较弱,故受伤害程度有明显差异。雷江丽等^[8]以番茄幼苗为试材,研究了低温胁迫与冷锻炼下不同耐冷性番茄品种幼叶细胞 Ca^{2+} 定位分布的变化。观察到耐冷性不同番茄幼叶细胞钙离子分布系统对低温逆境的反应明显不同,表明了细胞内 Ca^{2+} 的浓度与植物的抗寒性及细胞超微结构在低温下受到的破坏程度存在着一定的相关性。越冬甘蓝的种植地域及面积发展非常快,但相应的育种、基础研究起步较晚,许多研究者围绕着甘蓝的耐寒性生理生化方面进行了较为全面的探讨,但有关低温条件下甘蓝叶肉细胞的结构变化特征、细胞内 Ca^{2+} 分布特点及品种间差异的研究尚未见报道。以耐寒性不同的甘蓝品种为试材,模拟不同低温环境,探讨低温胁迫下甘蓝叶片细胞、亚细胞结构特征及细胞内 Ca^{2+} 分布的变化,比较了品种间差异,旨在为进一步深入研究和明确甘蓝耐寒性的细胞学机制、调控机制、甘蓝耐寒性遗传资源的选育及甘蓝抗寒栽培提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验于2010年在江苏省农业科学院蔬菜研究

所实验基地进行。试材为2份耐冷性不同的甘蓝高代自交系,编号分别是:耐冷材料C1(08391)、冷敏材料C2(08412)。3月11日播种,日光温室内育苗,常规管理。两种甘蓝材料出苗基本一致。

1.2 试验处理

将日光温室中(昼夜温度 $25^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$)培育至6~7片真叶的甘蓝幼苗,移入低温培养箱内进行低温处理,以继续在日光温室中培养的植株作为对照。试验分2组。第1组设 $5^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$ 、 $-3^{\circ}\text{C}/-3^{\circ}\text{C}$ 和 $25^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$ (CK)3个温度梯度对幼苗进行低温处理,处理时间是72 h;第2组将幼苗置于 -3°C 的低温中分别进行低温处理24、48、72 h,对照($25^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$)。以上试材所取样品均为第4片真叶中部主脉两侧位置。

1.3 测定方法

1.3.1 电镜切片制备 切取大小1~2 mm见方小块,固定前用注射器对叶片抽真空使气泡排出,用4%戊二醛前固定,pH7.2磷酸缓冲液冲洗,1%锇酸后固定,梯度乙醇脱水,Epon812环氧树脂包埋,LKB2088型超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,JEM2100CX II型透射电子显微镜观察、照相。

1.3.2 Ca^{2+} 细胞化学定位 切取大小约5 mm的小方块,用超声波继续抽除叶面杂质。固定前用注射器对叶片抽真空使气泡排出,然后用加有2%焦锇酸钾的2.5%戊二醛+2%多聚甲醛固定液(用0.2 mol/L的 K_2HPO_4 缓冲液溶解,pH7.6)进行6 h前固定。前固定后,用加有2%焦锇酸钾的同样缓冲液洗3次,每次15 min以除去固定液,接着用含2%焦锇酸钾及 K_2HPO_4 缓冲液溶解的1%锇酸固定液进行3~4 h的后固定,再用上述的缓冲液洗涤3次后,进行丙酮系列脱水,然后用Spurr低黏性树脂包埋,超薄切片机切成40~60 nm的切片,醋酸铀和柠檬酸铅二重染色,用CM透射电镜观察、照像。

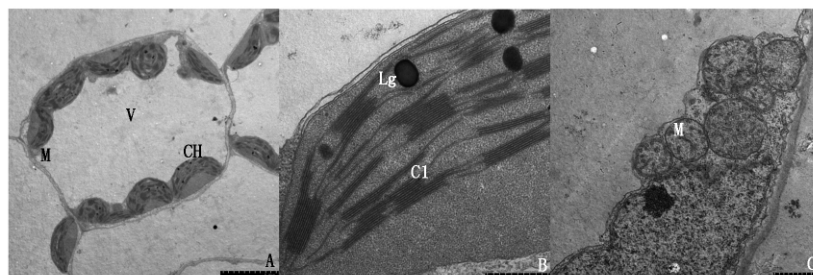
2 结果与分析

2.1 低温处理对不同耐寒性甘蓝幼苗叶片超微结构的影响

2.1.1 对照条件下甘蓝幼苗叶片细胞超微结构 电镜观察结果表明,在正常生长条件下,甘蓝幼苗叶各细胞器均完好,质膜结构清晰。其中,叶肉细胞

具有较大的中央液泡; 叶绿体靠近质膜环绕液泡分布于周围的细胞质中, 叶绿体是叶肉细胞中最突出的细胞器, 它们沿细胞膜排列, 数量较多, 一般在一个细胞切面上可见到 8~12 个, 形状分别有梭形、椭圆形、近圆形, 大小差异不明显(图 1-A)。叶绿体中类囊体较多, 基粒类囊体片层丰富整齐、垛叠规则并

和基质片层连成为整体。在叶绿体的基质中可看到多个脂类滴(图 1-B)。线粒体剖面呈圆形或椭圆形, 大多位于叶绿体之间或叶绿体与质膜的连接处, 双层膜结构完整, 内含物丰富, 脊数量较多, 清晰可见(图 1-C)。



A. 完整细胞(标尺=5 μm); B. 叶绿体(标尺=0.5 μm); C. 线粒体(标尺=1.0 μm);
V. 液泡; CH. 叶绿体; CL. 叶绿体片层; Lg. 脂类小球; M. 线粒体。

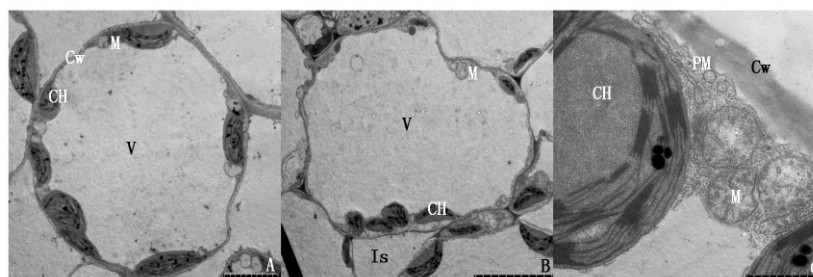
A. Intact mesophyll cell(Bars =5 μm); B. Chloroplast(Bars =0.5 μm); C. Mitochondria(Bars =1.0 μm); V. Vacuole;
CH. Chloroplast; CL. Chloroplast lamellae; Lg. Liposome grain; M. Mitochondria.

图 1 适温下生长的甘蓝幼叶细胞超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of cabbage seedlings grown at optimal temperature

2.1.2 5℃低温处理甘蓝叶片细胞超微结构 5℃低温处理时, 耐冷材料 C1 大多数细胞器基本无损, 排列有序(图 2-A)。冷敏材料 C2 细胞结构出现变形、扭曲; 叶绿体双层膜结构仍清晰可见, 基质片层未出现明显变化, 基粒类囊体和基质类囊体膨大, 基

粒片层变得疏松、膨胀, 但排列有序, 未发生扭曲现象; 线粒体内外双层膜结构未受到损伤和破坏, 但形状有部分扭曲, 还可清楚观察到线粒体的内脊(图 2-B, C)。



A. 耐冷材料完整细胞(标尺=5 μm); B. 冷敏材料完整细胞(标尺=10 μm);
C. 冷敏材料叶绿体和线粒体(标尺=1 μm); Cw. 细胞壁; Is. 细胞间隙; PM. 质膜。

A. Leaf intact mesophyll cell in cold-resistant lines(Bars =5 μm); B. Leaf intact mesophyll cell in cold-sensitive lines(Bars =10 μm);
C. Chloroplast and mitochondria in cold-sensitive lines(Bars =1 μm); Cw. Cell wall; Is. Intercellular space; PM. Plasmalemma.

图 2 经 5℃低温处理的甘蓝幼叶细胞超微结构

Fig. 2 Ultrastructure of cabbage seedlings grown at 5°C

2.1.3 -3℃低温处理甘蓝幼苗叶片细胞超微结构 经 -3℃低温处理后, 耐冷材料 C1 叶片细胞结构不规则, 但大多数细胞器基本无损, 排列有序(图 3-A)。叶绿体位置未发生变化, 仍整齐的单行排列在细胞壁的周围; 叶绿体基粒片层排列基本整齐, 只有少部分有断裂现象; 线粒体形状发生部分扭曲, 但膜结构完整(图 3-C)。

冷敏材料 C2 细胞结构遭到严重破坏, 形状变的不规则, 质膜内陷, 大部分叶绿体位置发生变化, 结构遭到严重破坏, 排列紊乱, 方向不规则(图 3-B, E)。叶绿体外被膜发生解体, 形状多样、不规则, 基

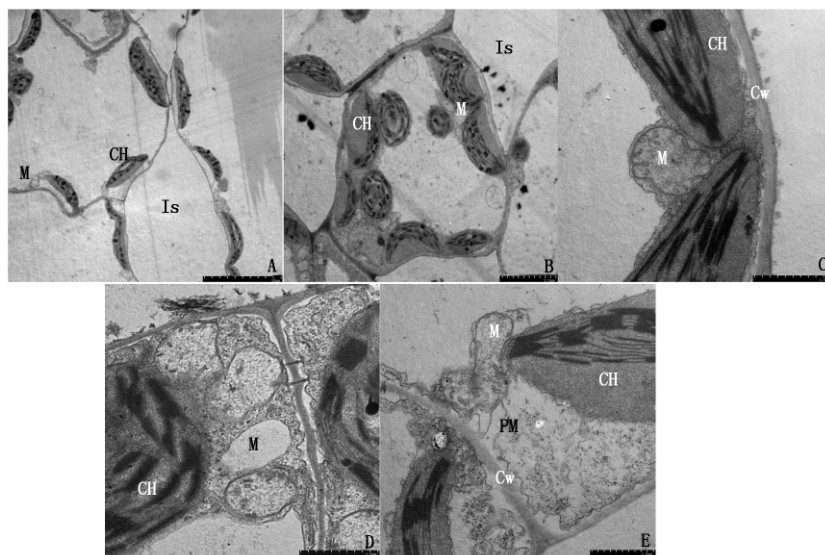
粒片层排列方向改变, 交错散落, 片层断裂、降解。叶绿体内分布着较多的拟脂颗粒和嗜钨颗粒。线粒体多数扭曲变形, 双层膜结构可见, 但已无明显的内脊, 内部呈小泡化(图 3-D)。同时发现, 不同细胞中同一种细胞器的损伤程度存在差异性。

2.2 低温处理对不同耐寒性甘蓝幼苗叶片 Ca^{2+} 分布的影响

2.2.1 对照条件下甘蓝幼苗叶肉细胞内 Ca^{2+} 分布 Ca^{2+} 定位分布的电镜观察结果显示, 甘蓝幼苗叶肉细胞内 Ca^{2+} 的分布在耐冷性不同材料之间无明显差异。甘蓝幼苗叶肉细胞中焦磷酸钙沉淀颗粒大

量出现在中央大液泡和细胞间隙中,细胞壁、细胞核中也有少量存在,而在细胞基质、叶绿体中则看不到焦锑酸钙沉淀(图4)。表明液泡和细胞间隙是甘蓝

细胞的主要 Ca^{2+} 库,正常情况下细胞基质中的 Ca^{2+} 浓度很低。

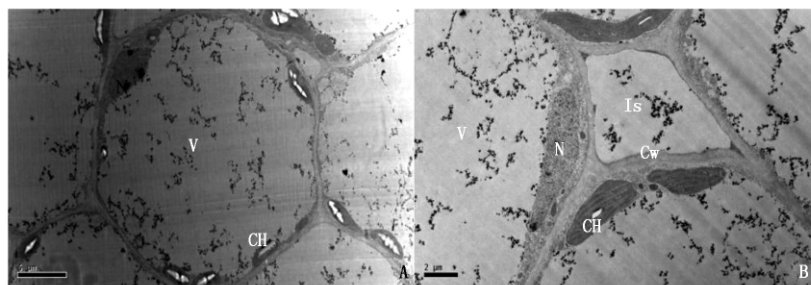


A. 耐冷材料完整细胞(标尺=10 μm); B. 冷敏材料完整细胞(标尺=5 μm); C. 耐冷材料叶绿体和线粒体(标尺=1 μm); D. 冷敏材料叶绿体和线粒体(标尺=1 μm); E. 冷敏材料质膜内陷(标尺=1 μm)。

A. Leaf intact mesophyll cell in cold-resistant lines(Bars = 10 μm); B. Leaf intact mesophyll cell in cold-sensitive lines(Bars = 5 μm); C. Chloroplast and mitochondria in cold-resistant lines(Bars = 1 μm); D. Chloroplast and mitochondria in cold-sensitive lines(Bars = 1 μm); E. Plasmalemma invagination of cold-sensitive lines(Bars = 1 μm) .

图3 经-3°C低温处理的甘蓝幼叶细胞超微结构

Fig.3 Ultrastructure of cabbage seedlings grown at -3°C



A. 完整细胞(标尺=5 μm); B. 细胞核、叶绿体、细胞质和细胞间隙(标尺=2 μm)。

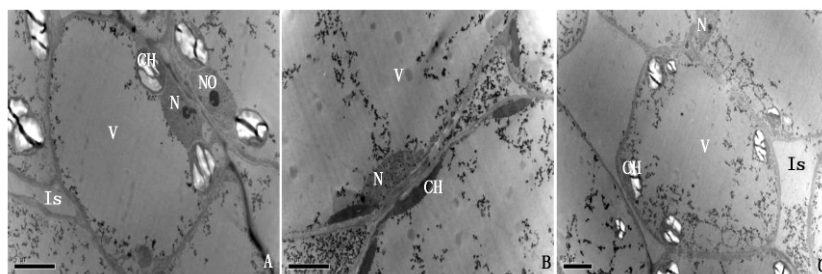
A. Intact mesophyll cell(Bars = 5 μm); B. Cell nucleus, chloroplast, cytoplasm and intercellular space(Bars = 2 μm) .

图4 适温下生长的甘蓝幼叶细胞 Ca^{2+} 分布

Fig.4 Ca^{2+} distribution in leaf cell of cabbage seedlings grown at optimal temperature

2.2.2 -3°C 低温处理甘蓝幼苗叶肉细胞内 Ca^{2+} 分布 甘蓝幼苗经-3°C 低温处理 24 h 后,耐冷材

料 C1 在电镜下可见液泡内的焦锑酸钙沉淀分布减少,然而液泡膜上可见少量 Ca^{2+} 分布,细胞质中 Ca^{2+}



A. 耐冷品种完整细胞(标尺=5 μm); B. 耐冷品种液泡、细胞核、叶绿体、细胞质和细胞间隙(标尺=5 μm); C. 冷敏感品种完整细胞(标尺=5 μm)。

A. Leaf intact mesophyll cell in cold-resistant lines(Bars = 5 μm); B. Vacuole, cell nucleus, chloroplast, cytoplasm and intercellular space in cold-resistant lines(Bars = 5 μm); C. Leaf intact mesophyll cell in cold-sensitive lines(Bars = 5 μm) .

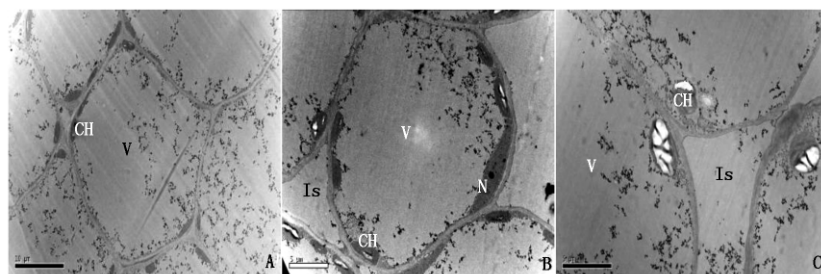
图5 经-3°C低温处理 24 h 后细胞 Ca^{2+} 分布

Fig.5 Ca^{2+} distribution in leaf cell of seedlings treated at -3°C for 24 h

明显增加,叶绿体、细胞核中出现较多 Ca^{2+} ,细胞间隙中仍然有大量钙沉淀颗粒分布,可能是液泡内 Ca^{2+} 由膜上钙通道释放进入细胞质(图 5-A,B)。冷敏材料 C2 液泡膜、细胞质中 Ca^{2+} 也有增加,但要比耐冷材料少(图 5-C)。

甘蓝幼苗经 -3°C 低温处理 48 h 后,耐冷材料

C1 细胞内增加的 Ca^{2+} 浓度降低,大量 Ca^{2+} 存在于液泡、细胞间隙(图 6-A);冷敏材料 C2 经 -2°C 48 h 低温处理后,液泡内的 Ca^{2+} 趋向于液泡膜内侧,细胞基质 Ca^{2+} 水平显著提高,细胞基质和细胞膜上分布有较多的焦磷酸钙沉淀(图 6-B,C)。



A. 耐冷品种完整细胞(标尺 = 10 μm); B. 冷敏感品种完整细胞(标尺 = 5 μm);

C. 冷敏感品种液泡、细胞核、叶绿体、细胞质和细胞间隙(标尺 = 5 μm)。

A. Leaf intact mesophyll cell in cold-resistant lines(Bars = 10 μm); B. Leaf intact mesophyll cell in cold-sensitive lines(Bars = 5 μm);

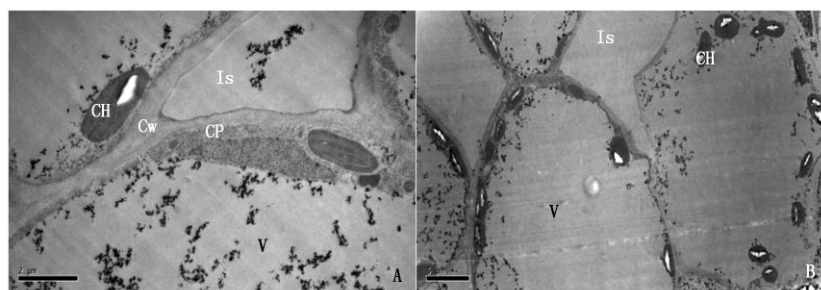
C. Vacuole, cell nucleus, chloroplast, cytoplasm and intercellular space in cold-sensitive lines(Bars = 5 μm) .

图 6 经 -3°C 低温处理 48 h 后细胞 Ca^{2+} 分布

Fig. 6 Ca^{2+} distribution in leaf cell of seedlings treated at -3°C for 48 h

2.2.3 -3°C 低温处理 72 h 后细胞 Ca^{2+} 分布 -3°C 低温处理 72 h 后,耐冷材料 C1 细胞内增加的 Ca^{2+} 浓度迅速降低,回复到处理前状态,恢复 Ca^{2+} 的稳定平衡(图 7-A)。冷敏材料 C2 发生质壁分离,细胞间隙内的焦磷酸钙沉淀极少,有的也紧贴在细胞外壁上,细胞基质、核基质和细胞膜上则分布有非常多

的焦磷酸钙沉淀(图 7-B),在液泡中也可见到少量的焦磷酸钙沉淀。推测可能是因为细胞内增加的 Ca^{2+} 水平不降低,不能恢复 Ca^{2+} 的稳定平衡,在长时间的低温处理下,核膜与液泡膜等受到破坏,使得已经进入细胞基质中的 Ca^{2+} 又有部分通过膜的破损部分重新进入液泡与核质中。



A. 耐冷品种液泡、细胞核、叶绿体、细胞质和细胞间隙(标尺 = 2 μm); B. 冷敏感品种完整细胞(标尺 = 5 μm)。

A. Vacuole, cell nucleus, chloroplast, cytoplasm and intercellular space in cold-resistant lines(Bars = 2 μm);

B. leaf intact mesophyll cell in cold-sensitive lines(Bars = 5 μm) .

图 7 经 -3°C 低温处理 72 h 后细胞 Ca^{2+} 分布

Fig. 7 Ca^{2+} distribution in leaf cell of seedlings treated at -3°C for 72 h

3 讨论

3.1 低温胁迫条件下甘蓝幼叶超微结构变化特征

甘蓝喜温和凉爽的气候,一般在 $15 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 的条件下最适宜生长。其对低温的忍耐力往往因品种、生长期的不同而有差异。刚出土的幼苗抗寒能力弱,随着植株的生长,耐寒力逐渐加强,具有 6~8 片叶的健壮幼苗对低温的忍耐力较强。在长江流域及其以南地区,冬季气温一般在 $5 \sim -3^{\circ}\text{C}$ 之间,因此,本研究采用 $5, -3, 25^{\circ}\text{C}$ (对照) 对 6~7 片真叶的甘

蓝幼苗进行低温处理。本试验结果显示,耐冷材料和冷敏材料均能适应 5°C 低温环境,不会发生冷害。在 -3°C 低温胁迫下,耐冷材料叶片超微结构破坏较小,叶绿体、线粒体、液泡等细胞器仍能够维持其基本的结构,细胞质膜、液泡膜无破裂现象,说明耐低温材料能够适应 -3°C 低温环境;而冷敏感品系细胞结构遭到严重破坏,大部分叶绿体被膜解体,基粒片层解体,线粒体膜破坏,脊消失,表明冷敏材料 -3°C 低温环境胁迫下会发生严重冻害。以上结果表明,细胞器结构的稳定性同植株的抗寒力呈正相关,即

冷害引起各类细胞器结构的变化及其破坏程度,决定于品种的抗寒性^[9,10]。

甘蓝幼苗受冻时不同的细胞器抗寒力有所不同,本研究中叶绿体首先出现冻害现象,其次是线粒体、原生质膜等。前人的研究也表明,叶绿体对低温、干旱^[11]、铝胁迫^[12]等十分敏感,这与本研究结果一致。叶绿体拟脂颗粒的积累是叶绿体类囊体受到伤害降解的结果,在 -3°C 低温环境胁迫下,冷敏材料的拟脂颗粒增加,说明冷敏材料叶绿体类囊体受低温伤害的程度重。本试验还发现,在相同低温胁迫下,不同细胞中同一种细胞器的损伤程度存在梯度及差异性。这种细胞器对低温胁迫反应的差异性,使细胞在外界胁迫下仍然可以维持一段时间的正常生理功能,从而有利于植株经过一定低温的胁迫锻炼后,反而提高其抗寒性。

3.2 低温胁迫条件下甘蓝幼叶细胞内 Ca^{2+} 分布的变化特征

在正常生长条件下,植物细胞基质中游离 Ca^{2+} 水平很低,液泡是植物细胞的主要 Ca^{2+} 库;其中液泡中 Ca^{2+} 浓度为 10^{-3} mol/L ,细胞质中约 10^{-7} mol/L ^[13-15]。本试验结果显示,在正常条件下甘蓝叶片细胞质中的 Ca^{2+} 浓度很低,液泡和细胞间隙是其主要 Ca^{2+} 库,细胞壁、细胞核也有不少 Ca^{2+} ,这与前人研究结果基本相一致。

Ca^{2+} 在多种植物中均可作为环境刺激下基因激活的信号转导元件^[16-18]。低温刺激信号引起细胞质中 Ca^{2+} 的浓度增加,达到 Ca^{2+} 与细胞中的钙调蛋白(Calmodulin,简称 CaM)相结合的 Kd 值,于是 Ca^{2+} 与 CaM 结合为 $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{CaM}$,某些依赖于钙调蛋白的酶与 $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{CaM}$ 结合后,调控低温驯化和冷调控基因的表达^[19-22]。本研究中,低温胁迫 24 h 后,耐冷材料细胞中的 Ca^{2+} 分布对低温刺激迅速做出反应,细胞质和细胞核中的 Ca^{2+} 浓度明显地增加,这种 Ca^{2+} 浓度分布的改变继而引发一系列的生理、生化反应,最终导致植物的外部抗寒力反应;相比之下,冷敏感品种细胞内 Ca^{2+} 变化来的迟缓。在 24 h 以后的低温培养过程中(至 72 h),耐冷材料细胞内增加的 Ca^{2+} 浓度迅速降低,恢复 Ca^{2+} 的稳定平衡。当细胞质中的 Ca^{2+} 浓度和分布在适当范围内变化(增加)时,会直接影响到细胞的生理代谢,在植物对外界环境的适应调节反应中起到积极的作用,但是当其变化超出一定的范围,就会破坏和扰乱细胞正常的结构与功能^[23-25]。冷敏感植物的质膜 Ca^{2+} 泵 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ 也是冷敏感的,一般在 $2 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 会丧失活性。因而增加的 Ca 不能对它起反馈作用,以

致不能使 Ca 撤退^[26]。冷敏感材料细胞内增加的 Ca^{2+} 水平不能快速降低,从而无法恢复 Ca^{2+} 的稳定平衡,这不但不能启动植物对低温环境的适应调节活动,反而会加重冷害的发生。

4 结论

耐冷材料和冷敏材料幼苗分别经 $5, -3^{\circ}\text{C}$ 低温处理后,二者均能适应 5°C 低温环境,而经 -3°C 低温胁迫后,冷敏材料叶片超微结构破坏严重,表明细胞器结构的变化及其破坏程度,决定于甘蓝品种的抗寒性。经 -3°C 不同时间的低温处理后,耐冷材料与冷敏材料细胞内 Ca^{2+} 分布变化不同。低温胁迫下耐寒性不同甘蓝材料胞内 Ca^{2+} 行为特征的不同,进一步为“ Ca^{2+} 是低温下生理信号的转导者”这一假说^[27]提供了新的证据。本研究为进一步深入研究和明确甘蓝耐寒性的细胞学机制、调控机制及其甘蓝耐寒遗传资源的筛选提供理论依据。

参考文献:

- [1] Kratsch H A, Wise R R. The ultrastructure of chilling stress [J]. *Plant Cell and Environment* 2002, 23: 337 - 350.
- [2] Bush D S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling [J]. *Annu Rev plant Physiol Plant Mol Biol*, 1995, 46: 95 - 112.
- [3] Palta J P. Role of calcium in plant responses to stresses: linking basic research to the solution of practical problems [J]. *Hort Science*, 1996, 31(1): 51 - 57.
- [4] Fasano J M, Massa G D, Gilroy S. Ionic signaling in plant responses to gravity and touch [J]. *Journal of Plant Growth Regul* 2002, 21: 71 - 88.
- [5] Blancaflor E B, Masson P H. Plant gravitropism: Unraveling the ups and downs of a complex process [J]. *Plant Physiol* 2003, 133: 1677 - 1690.
- [6] 杨凤娟, 魏 珉, 苏秀荣, 等. 不同浓度 NO_3^- 胁迫下黄瓜幼苗根系分生区细胞内 Ca^{2+} 分布变化的差异 [J]. *园艺学报* 2009, 36(9): 1291 - 1298.
- [7] 郑丽梅, 司龙亭, 韩贵超. 低温处理对不同耐寒性黄瓜幼苗叶片超微结构的影响 [J]. *西北农业学报* 2009, 18(4): 276 - 279.
- [8] 雷江丽, 杜永臣, 朱德蔚, 等. 低温胁迫下不同耐冷性番茄品种幼叶细胞 Ca^{2+} 分布变化的差异 [J]. *园艺学报* 2000, 27(4): 269 - 275.
- [9] 简令成. 植物抗寒机理研究的新进展 [J]. *植物学通报* 1992, 9(3): 17 - 22, 16.
- [10] 郑国华, 张贺英, 钟秀容. 低温胁迫下枇杷叶片细胞超微结构及膜透性和保护酶活性的变化 [J]. *中国生态农业学报* 2009, 17(4): 739 - 745.

- [11] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片超微结构的影响[J]. 福建农业大学学报 2001, 30(2): 171-174.
- [12] 肖祥希,杨宗武,郑 蓉,等. 铝胁迫对龙眼叶和根细胞超微结构的影响[J]. 林业科学 2003, 39(专刊1): 58-61 203.
- [13] 付连双,王晓楠,王学东,等. 低温驯化及封冻后不同抗寒性小麦品种细胞超微结构的比较[J]. 麦类作物学报 2010, 30(1): 66-72.
- [14] Poovaiah B W, Mcfadden J J, Reddy A N. The role of calcium ions in gravity signal perception and transduction [J]. *Physiol Plantarum*, 1987, 71: 401-407.
- [15] 王 红,简令成,张举仁. 低温逆境胁迫下水稻幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平的变化[J]. 植物学报, 1994, 36(8): 587-591.
- [16] Busconi M, Bosco C D, Crosatt I C. The cold regulated genes are involved in the physiological response of barley to cold environment [J]. *Agricultural Science* 2001, 14: 17-27.
- [17] Quan R, Lin H, Mendoza I *et al.* SCABP8/CBL10 a putative calcium sensor, interacts with the protein kinase SOS2 to protect *Arabidopsis* shoots from salt stress [J]. *Plant Cell* 2007, 19(4): 1415-1431.
- [18] Xu J, Li H D, Chen L Q, Wang Y, *et al.* A protein kinase interacting with two calcineurin B-like proteins regulates K^+ transporter AKT1 in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 2006, 125: 1347-1360.
- [19] Monroy A, Sarhan F, Dhindsa R S. Cold induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression, evidence for a role of calcium [J]. *Plant Physiol*, 1993, 102(4): 1227.
- [20] Sanders D, Pelloux J, Brownlee C, *et al.* Calcium at the crossroads of signaling [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(Suppl): 401-417.
- [21] Panedy S, Tiwari S B, Upadhyaya K C, *et al.* Calcium signaling: Linking environmental signals to cellular functions [J]. *Critical Rev Plant Sci*, 2000, 19(4): 291-318.
- [22] Bush D S. Regulation of cytosolic calcium in plants [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103: 7-13.
- [23] 刘 炜,孙德兰,王 红,等. 低温处理对冬、春小麦细胞 Ca^{2+} 时空变化的影响[J]. 植物学报, 2001, 43(12): 1218-1223.
- [24] Jian L C, Sun L H, Li J H, *et al.* Ca^{2+} homeostasis differs between plant species with different cold-tolerance at 4°C chilling [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(4): 358-366.
- [25] Evans L S, Sullivan J H, Lim M. Initial effects of UV-B radiation on stem surfaces of *Stenocereus thurberi* (organ pipe cacti) [J]. *Environmental and Experimental Botany* 2001, 46(2): 181-187.
- [26] 简令成,王 红. 逆境植物细胞生物学[M]. 北京: 科学出版社. 2009.
- [27] Minorsky P V. A heuristic hypothesis of chilling injury in plants: a role for calcium as the primary physiological transducer of injury [J]. *Plant Cell Environ*, 1985, 8: 75-94.