

冬小麦越冬期茎尖超微结构变化 与玉米赤霉烯酮的关系^①

赵德刚^② 孟繁静
(生物学院)

摘要 应用酶联免疫技术和电镜技术,研究了冬小麦(*T. aestivum* L.)品种燕大 1817 越冬期内源玉米赤霉烯酮(ZEN)含量和茎尖超微结构的变化,结果表明,随着秋末冬初气温逐渐降低,日照缩短,茎尖 ZEN 含量逐渐增加,11 月下旬含量达到高峰,随后急剧下降,到 1 月下旬又出现一个小的含量高峰。在小麦茎尖 ZEN 含量出现高峰前后(11 月底,12 月初),茎尖细胞中线粒体和质体的体积增大,形状也发生变化,线粒体从低温诱导前的圆球形变为长形、哑铃形、环形或者不规则形等形状,哑铃形质体出现频率也较高,核膜孔处于开放态。在茎尖出现第二次 ZEN 含量高峰时,观察到线粒体和质体内部结构明显增加。

关键词 超微结构;玉米赤霉烯酮;冬小麦

中图分类号 Q945.41

The Relationship Between Ultrastructural Changes and Zearalenone in *Triticum aestivum* L. During Overwintering

Zhao Degang Meng Fanjing
(College of Biology)

Abstract The cell ultrastructure and ZEN levels in shoot apex of *Triticum aestivum* L. cv. Yan Da 1817 during overwintering were studied by electron microscopic technique and immunosorbent assays. The results showed that: in natural condition, there were two peaks of zearalenone(ZEN) contents in shoot apex of winter wheat. They appeared at the end of Oct. and Jan. respectively. As the temperature decreased in the late autumn and early winter, the mitochondria and plastids in shoot apical cells increased in size and changed in structure, the nuclear pores were open. The internal structures in mitochondria and plastids increased obviously during appearance of the second peaks of ZEN content.

Key words ultrastructure; zearalenone; winter wheat(*Triticum aestivum* L.)

人们曾观察到,植物从营养生长向生殖生长转变的过程中,茎顶端分生组织有丝分裂活动加强,周期缩短,并出现细胞同步化现象^[1]。而一二年生的冬性植物在春化早期,茎尖分

收稿日期 1996-03-28

①国家自然科学基金资助项目

②赵德刚,北京海淀圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

生组织有丝分裂活性先是降低,再继续接受低温时,细胞活性恢复,分生细胞中的核仁增大^[2]。Fiona 等发现春化的冬小麦和非春化的春小麦顶锥平均体积增加,但不春化的冬小麦不增加^[3]。

多年来的研究表明,高等植物体内存在的内源小分子活性物质-玉米赤霉烯酮(ZEN)参与了小麦成花诱导过程的调控^[4~8],但其调控机理尚待进一步研究澄清。本研究以小麦体内 ZEN 含量变化为主要线索,研究冬小麦越冬过程中茎尖细胞超微结构的变化与 ZEN 的关系,在超微结构水平上为阐明 ZEN 在植物成花诱导中的调控作用,提供直接的和具体的形态学证据。

1 材料与方法

供试材料为冬小麦(*Triticum aestivum* L.)品种“燕大 1817”。用水浸种 48 h,摊晾稍干即点播于本校科学园田间,1993-09-28 日播种,田间管理按常规进行。从幼苗三叶期起,每周取样一次,测定主茎茎尖(包括分蘖节)的内源 ZEN 含量,同时剥取茎尖分生组织进行制片观察。

1.1 ZEN 含量测定

收集 10 株小麦苗用蒸馏水冲洗干净,剥取主茎茎尖(包括分蘖节),吸水纸吸去表面水分,迅速称重,加 0.5 mL 乙酸乙酯于研钵中充分研磨,过滤,用乙酸乙酯冲洗残渣数次,将所得滤液定容至 3 mL,按陈新建等直接酶联免疫技术(ELISA)或固相放射免疫技术(SPRIA)测定 ZEN 含量^[9~10]。

1.2 茎尖超薄切片样品的制备和观察

洗净小麦幼苗,在解剖镜下剥出茎尖,用双面刀片切取 3~5mm 的茎尖,投入 2.5%戊二醛溶液(0.1mol/L PBS 配制,pH7.2)中进行前固定,1%锇酸(缓冲液同前)中进行后固定,重蒸水冲洗,系列浓度丙酮脱水,Spurr's 环氧树脂浸透、包埋。LKB-5 型超薄切片机切取 1 μm 的半薄切片,0.05%苯胺蓝染色,光镜下观察并定位(图版 I,1)。LKB 超薄切片机钻石刀或玻璃刀切片,厚度为 40~60 nm,切片先后用醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,JEM-100CX 型 TEM 观察照相。

2 实验结果

2.1 茎尖内源 ZEN 含量的变化

在冬小麦越冬期,应用 SPRIA 技术检测小麦幼苗内源 ZEN 含量,结果表明,越冬期冬小麦茎尖(包括分蘖节)ZEN 含量呈动态变化,在幼苗三叶期茎尖 ZEN 含量较高,随后急剧下降,进入初冬后,ZEN 含量逐渐增加,至 11 月下旬含量达到高峰,随后又急剧下降,第二年 1 月下旬又出现一个小的含量高峰(图 1)。另取样用 ELISA 测定 ZEN 含量,获得相同的变化趋势。这一变化规律与以往的研究结果基本相符^[11]。分析小麦幼苗生长期气温和日照变化发现,从 10 月初开始,气温逐渐下降,日照逐渐缩短,到 11 月下旬,气温已降到摄氏零度以下,日照处于最低点(图 2),此时正值茎尖内源 ZEN 含量达到高峰。说明这一时

期小麦幼苗茎尖 ZEN 含量的增加,与低温和短日光周期诱导有关。在 10 月中旬,即小麦三叶期检测 ZEN 含量较高,显然与低温和短日诱导无关,其产生的原因和作用有待进一步研究。

本实验还发现在 1 月下旬出现一个较小的 ZEN 含量高峰,此时气温处于摄氏零度以下,而平均日照在 11 月上旬急剧升高以后,随时间进程又逐渐下降(图 2),推测 1 月下旬 ZEN 含量高峰的再次出现,与这一阶段的短日光周期诱导有关。

2.2 茎尖细胞超微结构变化

电镜观察发现,在越冬期间,小麦茎尖细胞超微结构发生明显变化。在 11 月上中旬,小麦幼苗处于分蘖期,茎尖细胞中,细胞核仁较紧密,质体和线粒体呈圆形或椭圆形,11 月下旬,茎尖 ZEN 含量达到高峰,细胞核仁变得较为松散,而质体和线粒体仍为圆形或椭圆形,核膜孔处于开放状态(图版 1, 2)。12 月上中旬,线粒体及质体数量增加,体积增大,出现巨型线粒体和巨型质体,形态亦发生明显的变化,线粒体从低温诱导前的圆球形变为不规则的长形、哑铃形、环形或多边形等各种形状,哑铃形质体出现频率也较高(图版 1, 3、4、5),说明质体和线粒体正处于分裂状态。但线粒体和质体内膜结构增加相对较少(图版 1, 5),核膜孔处于开放状态(图版 1, 4、6)。在 1 月下旬,体内 ZEN 含量又出现高峰时,正处于严冬期,此时幼苗已经停止生长,在茎尖细胞中,线粒体又以圆球形为主,内嵴增多,质体内部膜结构也明显增加(图版 1, 7)。说明在冬季低温和短日诱导

下,小麦幼苗体内 ZEN 含量发生有规律的动态变化,并在 ZEN 含量高峰前后,茎尖细胞开始发生超微结构的变化,主要表现在核仁松散,线粒体和质体等细胞器大量增殖,个体增大,进入严冬期后,则以增加细胞器内部结构为主,为冬后茎尖的迅速生长和分化作准备,此时

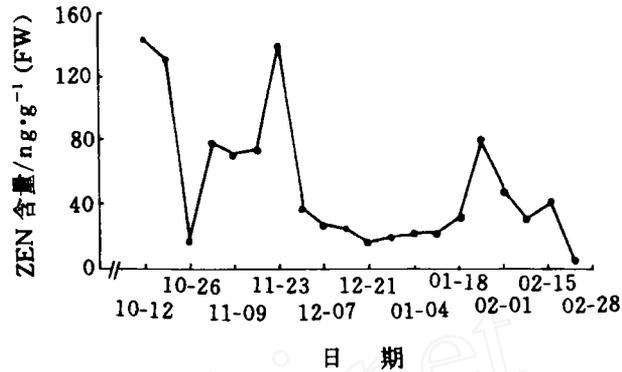


图 1 冬小麦越冬过程中茎尖内源 ZEN 含量的变化

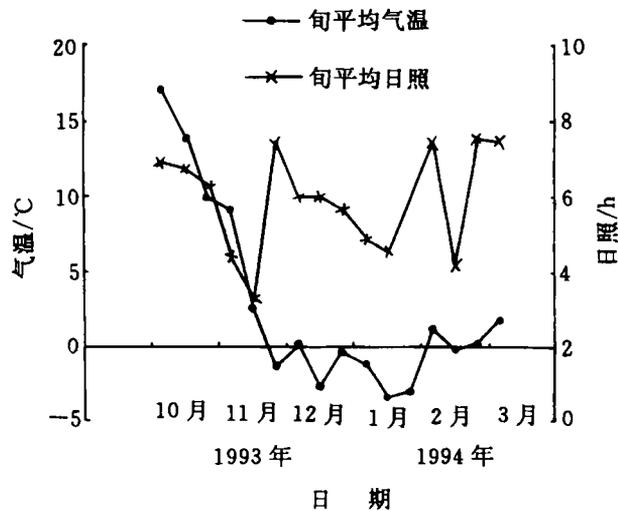
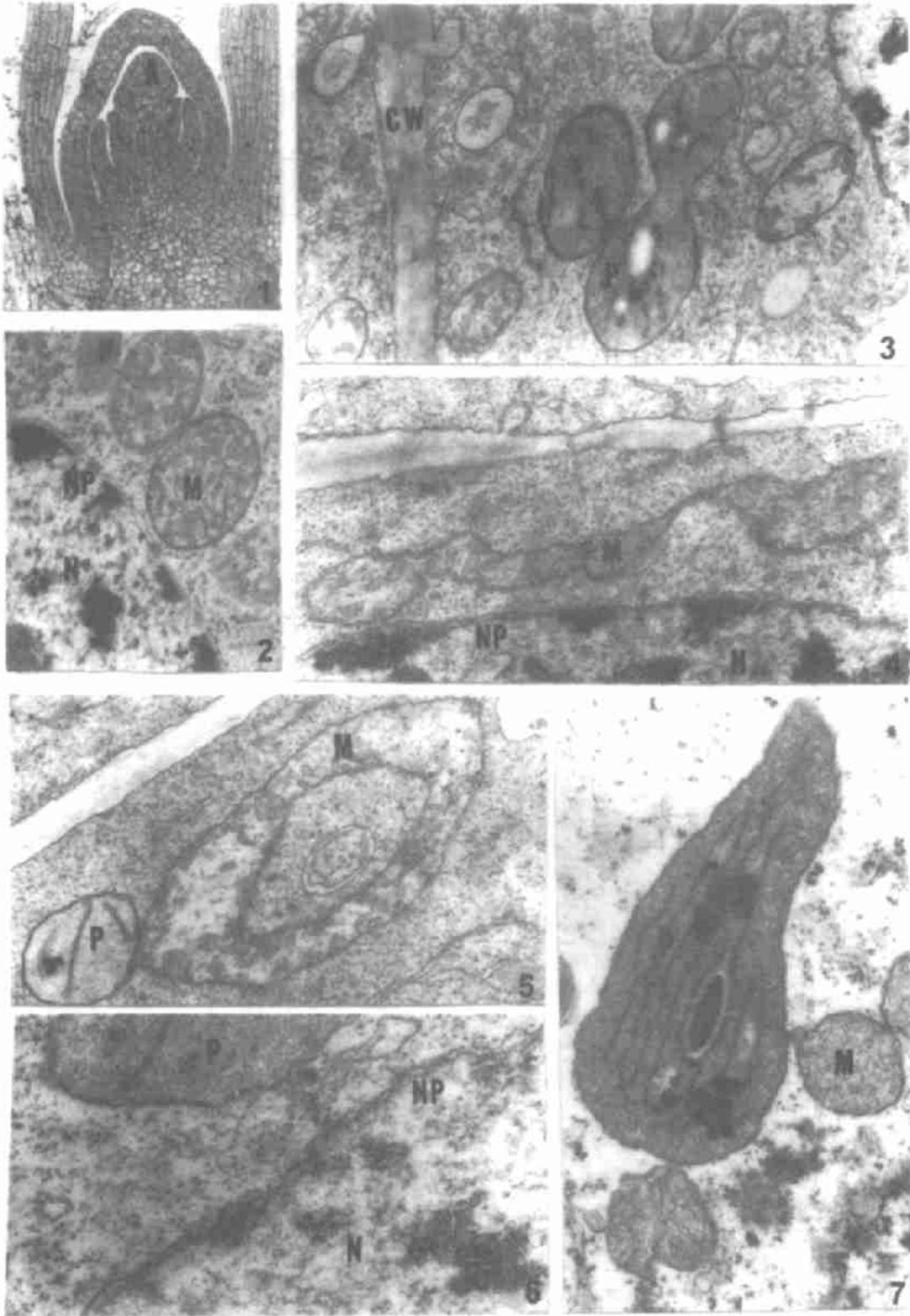


图 2 冬小麦越冬期间气温和日照变化曲线



图版说明:

1 Spurr's 环氧树脂包埋茎尖半薄切片的光镜照片,示超薄切片观察部位一生长锥($\times 33$, 12-07 固定)。2~6 茎尖细胞的电镜照片。2. 示圆形线粒体($\times 20,000$; 11-30 固定)。3. 示哑铃形质体($\times 13,000$; 12-07 日固定)。4. 示正在分裂的线粒体($\times 20,000$; 12-07 固定)。5. 示环形线粒体,注意线粒体内嵴少和质体内部结构少($\times 20,000$; 12-07 固定) 6. 示开放态核膜孔($\times 33,000$; 12-07 固定) 7. 示线粒体内嵴多,质体内部结构增加($\times 26,000$; 12-21 固定)

A: 生长锥 CW: 细胞壁 M: 线粒体 N: 细胞核 NP: 核膜孔 P: 质体

也是冬小麦完成春化作用的标志。

3 讨论

3.1 ZEN 含量与冬小麦田间春化作用

曾有研究表明,冬小麦秋播于田间后,从播种到出苗以及从出苗到三叶期,不具备冬小麦春化的条件,冬小麦的整个春化过程是依“春化—越冬—再春化”的跨年度方式进行,在小麦三叶期以后到接近越冬前,以及翌春返青后到生理拔节前各有一段低温短日时间,通过春化作用的累积效应而完成整个春化过程^[12]。本研究结果表明,小麦秋播以后整个越冬期间出现两次日照趋于缩短的时期,并伴随温度的逐渐下降或日均温处于 0℃ 以下(图 2),这两个时期均出现 ZEN 含量高峰(图 1);说明体内 ZEN 含量随着气温降低和日照缩短而增加。体内 ZEN 含量高峰的出现,标志春化作用的完成^[3]。可以认为,冬小麦越冬期间,体内 ZEN 含量高峰与田间春化作用密切相关,ZEN 可能作为植物感受低温和短日的信号,积极参与了对冬小麦春化基因表达的调控。

3.2 小麦越冬茎尖超微结构变化与 ZEN 含量的关系

需低温植物只有经过低温期后,才能对特定的光周期刺激作出反应,而后有花原基的发端^[13],植物感受冷刺激并发生春化反应的部位是幼苗的顶端,多数要求春化的植物也是长日植物,它们在萌发后的一定时期要求光周期诱导,说明寒冷处理使茎尖细胞中产生了变化,使茎尖处于接受成花素刺激的状态^[13]。本实验发现,在冬小麦幼苗越冬期间,茎尖细胞超微结构发生明显的变化,这不仅与植物对于寒冷的适应有关^[14],同时也可能正是低温诱导茎端达到春化状态的必要过程。茎尖细胞结构发生最明显变化的时期正逢体内 ZEN 含量高峰出现前后,推测茎尖细胞超微结构的变化可能与体内 ZEN 含量的波动变化有关。有人认为,春化解除了阻止特异转录和转译序列的阻抑作用^[13]。在低温诱导下,ZEN 作为一个小分子信号物质在茎尖内的增减,或参与了特定基因阻抑作用的解除,导致了茎顶细胞发生结构上的变化,最终完成春化过程。

参 考 文 献

- 1 Grose S, Lynolon R F. Inhibition of growth and synchroniised cell division in the shoot apex in relation to flowering silene. *Planta*, 1984,161:289~294
- 2 Bernier G, Kinet L M, Sachs R M. *The physiology of flowering*. Boca Raton: CRC Press, 1981, 51
- 3 Fiona E W, Griffiths R F. The effects of vernalization on the growth of the wheat shoot apex. *Lyndon Ann Bot*, 1985,56,501~511
- 4 李季伦, 朱彤霞, 张 箴, 李永生, 孟繁静. 玉米赤霉烯酮的研究. *北京农业大学学报*, 1980, (1):13~28
- 5 孟繁静, 张 箴. 玉米赤霉烯酮的研究(续). *北京农业大学学报*, 1981, 2:101~103
- 6 孟繁静, 阙月美, 张蜀秋. 冬性植物体内类玉米赤霉烯酮与春化作用的关系. *植物学报*, 1986, 28(6): 622~627
- 7 孟繁静, 阙月美, 韩玉珍, 黎红霞, 王章存. 冬小麦越冬茎尖中的玉米赤霉烯酮. *中国科学(B辑)*, 1988,12:1261~1266
- 8 王 琿, 于静娟, 孟繁静. 冬小麦不同发育时期内源玉米赤霉烯酮含量变化对抽穗的影响. *北京农业大学学报*, 1992,18:46,52
- 9 陈新建, 刘泓川, 孟繁静. 玉米赤霉烯酮的直接酶联免疫分析. *植物生理学通讯*, 1989, (5):61
- 10 陈新建, 孟繁静. 玉米赤霉烯酮的固相放射免疫分析. *植物生理学通讯*. 1994, 30: 121~124
- 11 陈新建, 孟繁静. 自然越冬过程中冬小麦体内玉米赤霉烯酮含量的变化. *北京农业大学学报*, 1994, 2(1):1~4
- 12 曹广才. 冬小麦品种秋播的田间春化时期和意义. *北京农业科学*, 1988(4):16~18
- 13 Galston A, Davies P, Satter R. 编, 戴尧仁, 倪逸声, 葛明德译. *新编植物生理学-绿色植物的生活*. 北京:北京大学出版社, 1989. 373
- 14 简令成, 荆玉祥, 张保田. 植物抗寒性的细胞学研究——小麦进入寒冬时期细胞亚显微结构的变化. *植物学报*, 1973, 15(1):22~29