

缺铁逆境下南方苹果实生苗细胞的超微结构及净同化率

朱雪志, 胡小三

(永州职业技术学院 农业科学系, 湖南 永州 425000)

摘要: 将南方苹果早翠实生苗于 1.3 mg/kg 铁、pH 5.5; 0.13 mg/kg 铁、pH 6.5; 无铁, pH 5.5; 无铁, pH 6.5; 无铁, pH 7.8; 5 个处理中培养, 取其幼叶和老叶分别观察其细胞超微结构变化和新、老叶的净同化率, 并测各处理中叶片、根系中含铁量。结果表明: 各个铁逆境处理的苹果苗都呈现出极为明显的失绿症状, 且随铁素减少和 pH 值升高失绿症状加重, 细胞内很少看到微体, 淀粉粒很小或看不到。而培养于含铁 1.3 mg/kg、pH 5.5 营养中的苹果苗其叶肉细胞中的叶绿体发育正常, 并可见线粒体、微体及淀粉粒。在有效光合辐射内, 正常铁植株幼叶的净同化率比缺铁处理的高 2~4 倍。正常含铁量及低铁处理的苹果苗的老叶净同化率基本相同, 但无铁处理的较低。所有其他各处理的植株根、叶组织中含铁量只有细微的差异。

关键词: 南方苹果; 缺铁逆境; 细胞超微结构; 净同化率

中图分类号: S 661.103.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)04-0044-03

铁是电子传递链中的细胞色素及铁氧还蛋白的组成成分。因而, 对于多数植物, 它参与呼吸作用、光合作用及硝酸还原作用。铁还参与叶绿素的前身 δ -氨基乙酰丙酸的合成^[1]。在自然的条件下, 苹果树一般在高的 pH 值或高的 HCO_3^- 含量土壤上易发生缺铁症状^[2-3]。玉米、水稻、番茄、黄瓜、苍耳、菜豆、大麦及向日葵等作物的叶片, 由于缺铁而引起叶绿体超微结构的畸形已有报道^[4]。已有研究表明, 苹果叶绿体中的基粒大小(厚度、粗度)随叶片的成熟度及苹果生长环境的光强增加而提高^[5-6]。但尚未见到有关不同缺铁逆境程度对苹果叶细胞中叶绿体的功能及超微结构影响的报道。该试验目的是找出严重缺铁症状与苹果叶片的超微结构以及净光合作用变化的关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

取萌芽 65 d 南方苹果早翠实生苗, 于距茎基外 10 cm 剪断, 并去掉其上残留的叶片, 栽培于 1 L 的棕色广口塑料瓶上(每瓶种 2 株); 灌满营养液, 不断通气培养 38 d, 每周更换营养液 1 次。

1.2 处理方法

调节培养液的 pH 值及铁素的含量成下列处理: 1.3 mg/kg 铁(普通含量)、pH 5.5(计“O”处理); 0.13 mg/kg 铁(低铁)、pH 6.5(计“A”处理); 无铁, pH 5.5(计“B”处理); 无铁, pH 6.5(计“C”处理); 无铁, pH 7.8(计“D”处

理)。所有营养液 pH 值的调节, 都用 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 代替 CaCl_2 , 而保证营养液中最后钙的含量不变。所采用的铁素皆为 EDTA 铁盐(乙二胺四乙酸络合铁盐)。起初试验用 3×3 因子试验设计, 其中有 3 个铁素含量水平和 3 个 pH 值水平。然而, 鉴于在 pH 值 6.5 及以上处理中, EDTA 铁盐不稳定, 以及在试验过程中电镜分析对苗数的限制, 最后只选表现出典型缺铁症病症的组。每个组处理重复 4 次。

完全液的各组分含量如下: (mg/L) K (78.2), NO_3^- -N (73), P (31), Mg (20.8), S (16.7), Ca (70), Cl (15), Fe (1.3), Na (0.5), B (0.11), Cu (0.25), Mn (0.5), Mo (0.5) 和 Zn (0.5)。苹果实生苗培养于人工气候室, 昼夜温度为 20°C 或 18°C , 日照长度 12 h, 有效辐射强度 $400 \mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$ 。

处理后 29 d, 取完全展开的幼叶样品进行电镜观察。叶样切成 $2 \sim 3 \text{ mm}^2$ 的碎片, 于 22°C 下浸泡在 pH 6.8、含 3% 或乙酰的 0.05 M 磷酸缓冲液中 1.5 h。取出样品, 用缓冲液冲洗 6 次, 每次间隔 1 h。而后用 2% 锇酸缓冲液固定 2 h。在系列丙酮中脱水, 于低粘度的树脂浸渍包埋。选出银灰色的叶样, 用钻石刀在 Sorvall MT-2 型超薄切片机切片, 切片装在 75×300 目的铜网上, 用 2% 水合乙酸铀染色 10 min, 再用柠檬酸铅复染 5 min。所有制成切片, 置于 H500 型透射电子显微镜在 75 KV 下观察。

叶片净同化率的测定, 取处理 39~41 d 的样品, 用开放气流法测得。测定前将苹果苗搬到另一个昼夜温度为 $25^\circ\text{C}/18^\circ\text{C}$, 光合有效辐射强度为 $600 \mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$ 的培养室放置 5 d。测定于 $0 \sim 600 \mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$ 条件下

第一作者简介: 朱雪志(1970-), 女, 永州市人, 本科, 讲师, 现从事植物生理教学和研究工作。

收稿日期: 2008-11-10

进行。叶绿体含量用 Winterman 和 Demotz 法测得。取茎基部第 2、第 3 叶 2 片及最顶部 2 片完全展开的幼叶为样品,测定净同化率及叶绿素的含量。根、叶组织中铁素含量测定,用干灰化法,于 500℃下过夜,过 20 目筛。最后用原子吸收分光光度计测得⁷。叶样由所有完全开展的叶片混合而成。根样制备用无离子水洗净。

2 结果与分析

培养于无铁、pH 7.8 营养液中的苹果苗,经 3 周的缺铁处理后,开始出现缺铁症状(幼叶脉间缺绿)。4 周后,各个铁逆境处理的苹果苗都呈现出极为明显的失绿症状。这一阶段,失绿症在无铁和 pH 7.8 的处理中最为严重,坏死斑点也开始在失绿叶片上扩展,最后有的还出现顶芽萎缩。低铁和 pH 6.5 的失绿次严重,无铁和 pH 5.5 的中等,直到试验结束,它们的叶子还没有坏死损伤,也未见到顶芽萎缩现象。

叶片细胞的超微结构随营养液中铁素含量及 pH 值的不同而改变。培养于含铁 1.3 mg/kg 和 pH 5.5 营养液中的苹果苗其叶肉细胞中的叶绿体发育正常,并沿着细胞壁一侧平行排列。线粒体及微体(如过氧化物酶体)在叶绿体毗邻则常常见,或中沿着正常叶肉细胞的外膜排列。每个叶绿体都含有高电子密度的淀粉粒,并有由基质片层连接的与基粒组成的良好内膜系统。

无铁和 pH 5.5 处理的样品,叶绿体分布于紧贴细胞壁的原生质中。这些细胞壁不含有多层结构的基粒。含有多层结构的基粒是于正常含铁营养液中植株所含的叶绿体之特征。反之,其内膜系统由含有 2~3 片发育不良的基粒及其变长了的起连接作用的基质片层所连结。叶肉细胞中有大量的正常内膜结构的线粒体,然而很少看到微体的存在。在叶绿体内也很难看到淀粉粒,即使偶尔看到,也很小(见表 1)。有大量的嗜锲体在叶绿体中出现。

表 1 培养于不同含铁量及 pH 值营养液中苹果实生苗的幼叶淀粉粒及叶绿体形状

Table 1 Young leaf starch-grains and chloroplast shape of the apple seeding cells planted in different iron content and pH value nutrient solution

处理 Treatment		淀粉粒大小 Starch-grains		叶绿体 Chloroplast	
铁 Fe/ mg · kg ⁻¹	pH	长×宽/μm	个数/切片	长×宽/μm	
O	1.3	5.0×2.4	1.2	1.6×0.6	
A	0.13	7.4×2.0	2.7	1.3×0.5	
B	0.0	5.5×2.1	0.2	0.5×0.4	
C	0.0	5.5×1.9	0	0	
D	0.0	3.3×1.6	0	0	

注:表中所示数据为 30 个切片的观察数。每一处理组合都达到显著水平(<5%)。

培养于含铁 0.13 mg/kg 和 pH 6.5 营养液中的苹果实生苗,其叶绿体结构与含铁 1.3 mg/kg 和 pH 5.5 所描述的状况一样。常常可见淀粉粒和 6~9 层基粒的出现。但是,当铁素从 pH 6.5 营养液中消除时,叶绿体

的分布及超微结构就发生变化。叶绿体不再近细胞壁的一侧排列,并可在细胞中偶尔看到零散分布的发育不全的细胞器。其中,正常的基粒和基质片层被含有高电子密度的物质及小的嗜锲体所代替,而且在叶绿体中得不到淀粉粒。然而,在该处理中,未见到线粒体的数量及超微结构有何变化。

细胞器的大小仅为正常的 1/2~1/5。不含具有结构的内膜系统。在此类的叶绿体中,同样未见有淀粉粒的存在(表 1)。

在有效光合辐射 600 uE/(M² · S)条件下,正常铁植株幼叶的净同化率比缺铁处理的高 2~4 倍。当有效光合辐射为 200 uE/(M² · S)时,净同化率开始下降,且继续下降直至有效光合辐射补偿点约 30 uE/(M² · S)。光合作用降低次序与用透射电镜观察到的叶片超微结构紊乱情况相一致。正常铁及低铁处理与无铁、pH 5.5 处理的相同(表 2)。尽管没有一个明显的有效光合辐射的变换点,所有缺铁处理植株的净光合率当有效光合辐射低于 300 uE/(M² · S)时,便逐步下降。随着铁素效应的提高,其他补偿点也相应提高。

正常含铁量及低铁处理的苹果实生苗的老叶净同化率基本相同,但无铁处理的较低。然而,对于幼叶只有正常含铁处理的净同化率提高。老叶的叶绿体含量高于幼叶;高铁处理的叶绿体含量大大高于低铁处理及无铁处理(见表 2)。所有其他各处理的植株根、叶组织中含铁量只有细微的差异。

表 2 不同含铁量及 pH 处理的植株根、叶组织中的含铁量及净光合率和叶绿素含量

Table 2 The content of iron, only photosynthesizes rate and chlorophyll in the tissue of root and leaf planted in different iron content and pH

处理 Treatment		净光合率 Photosynthesize rate/mg CO ₂ h ⁻¹ · dm ⁻²		叶绿素含量 Chlorophyll content/mg · g ⁻¹ FW		含铁量 Fe content / ug · g ⁻¹ DW	
铁 Fe	pH	叶龄		叶龄		叶片	根系
/mg · kg ⁻¹		幼	老	幼	老		
1.3	5.5	8.7	11.4	3.0	4.9	68+9	108+14
0.13	6.5	3.9	8.2	1.6	2.5	41+12	24+3
0	5.5	3.7	4.4	1.8	3.4	48+12	19+17
0	6.5	2.4	5.6	1.5	2.6	48+18	16+4
0	7.8	2.0	5.9	1.3	3.0	44+8	17+4

3 讨论

世界各地的苹果及其他果树,由于铁素营养的缺乏而造成产量的损失。据估算,约占世界苹果栽培面积 10%~15%缺铁,其中我国就占一部分。缺铁即或是轻度的黄化,也会造成潜在光合能力的降低¹⁸,对于幼叶高达 75%,而对于老叶也有 30%(表 1)。这个潜在光合能力的降低可认为是这类树体减产的原因。许多植物营养学家已对 1 a 生作物如菜豆、大麦、甜菜及向日葵等材料进行过缺铁研究,他们认为培养基 pH 的升高不仅会降低铁的溶解度,而且还减少了植株对铁的吸收。

该试验结果表明, 提高缺铁营养液的 pH 值不但加速缺铁症的发生, 而且还增加病症的程度。这说明, 营养液的 pH 值影响苹果实生苗的生理代谢, 显然地, 可使实生苗内原有的铁素有效性降低, 这一点与无铁处理的效应是不同的。这些植株的根和叶的含铁量, 仅有非常细微的差别(表 2)。苹果实生苗铁逆境发生的病症主要表现在叶上。这与正常苗木不同, 正常苗木植株中的总铁量大部分存在根中。

叶肉细胞及叶绿体的超显微结构的畸形与其所表现的病状程度是相一致的。这似乎是缺铁通过一系列的有害反应, 如对铁氧还蛋白及细胞色素合成的影响而产生损害作用。因此, 光合作用、呼吸作用及硝酸盐的还原作用在植株体内便不能正常地进行, 高分子化合物的合成也受阻。在大麦缺铁研究中, 也有关于蛋白质及叶绿体中类脂含量严重降低的报道, 以上各种可能性都会造成所有生化活性功能受损, 甚至造成有害的中间产物的累积。为此缺铁对于植株细胞的超微结构有严重

影响就不足为奇。

参考文献

- [1] 韩锦峰, 陈善坤. 植物生理学报[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1986: 162-163.
- [2] 安华明, 樊卫国. 缺铁胁迫对川梨的生理影响[J]. 中国农业科学, 2003(8): 31-32.
- [3] 曹慧, 韩振海, 许雪峰. 等. 高等植物的铁营养[J]. 植物生理学通讯, 2002(2): 26-28.
- [4] 易翠林, 王贺, 张福锁. 等. 黄瓜、番茄和大豆对缺铁胁迫适应性反应的差异[J]. 植物生态学报, 1998(6): 79-81.
- [5] Horton P. Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence[M]. Jennigs R C. New York: Plenum press, 1996: 99-112.
- [6] Krause G H. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis[J]. The Basics Ann Rev Plant Physiol Plant MolBiol, 1991(42): 313-349.
- [7] 李合生. 植物生理生化试验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 李英慧, 韩振海, 许雪峰. 苹果高铁效相关性状与黄化指数相关性的研究[J]. 园艺学报, 2004(3): 46-49.

The Ultra Micro-structure of the Seedling Cell of Southern Apple and Net Assimilating Rate under Adverse Circumstance for Lack of Iron

ZHU Xue-zhi, HU Xiao-san

(The Agricultural Scientific Department of Yongzhou Vocational-technical College, Yongzhou, Hunan 425000 China)

Abstract: The seedling cells of Early Green in southern apple were planted in 5 kinds of culture mediums such as: 1.3 mg/kg iron, pH 5.5; 0.13 mg/kg iron, pH 6.5; no irons, pH 5.5; no irons, pH 6.5; no irons, pH 7.8; then selected their young leaf old leaf and respectively to observe the change of cell in ultra micro-structure and the net assimilating rate of new leaf and old leaf, and to examine iron content in leaf and root system in all kinds of culture mediums. The result indicated that each apple seedling under adverse circumstance which lack of iron had obvious symptom that lose green extremely, and the symptom of losing green aggravated with the iron reduces and pH value rises, and seldom see tiny body in the cell, and the starch grain seldom or can't find. But the chloroplast and mesophyll cell of apple seedling developed well when planting in 1.3 mg/kg iron, pH 5.5 nutrition, and could see the mitochondria, tiny body and starch grain. In the valid ray radiation, the net assimilating rate in normal iron young leaf of plant was 2~4 times higher than the ones that lack irons. Normal iron content and low iron apple seedling basically had the same assimilating rate, but it was relatively lower than that had no iron deal with. In other kinds of culture mediums, iron content had slight differences in the tissue of root, leaf of planting.

Key words: Southern apple; Adverse circumstance for lack of iron; The ultra micro-structure of cell; The net assimilating rate