

低温对蔗叶透性的破坏和三十烷醇效应的初步研究

莫家让 叶燕萍

(广西农学院)

多年来,低温对植物组织的危害,常以透性的破坏作指标,并在棉花、水稻、甘薯、咖啡、蕃茄、蚕豆、黄瓜等方面已有报道。多数研究者对透性的研究,着重于测定细胞或组织漏失电解质的电导度,^[1,4,5]没有对漏失物中是否存在重要的生物分子氨基酸进行具体分析。甘蔗是对低温十分敏感的作物,在不同低温条件下,不同持续期对蔗叶组织透性破坏的情况如何,是否有氨基酸渗出,均未见报道。目前,关于提高甘蔗抗寒性的研究工作,许多单位从良种选育,耕作栽培技术的改进上积极开展研究,而从生理学角度利用植物生长调节剂减轻低温对蔗叶组织透性破坏的研究,缺少可供参考的资料。为了逐步探明甘蔗寒害的生理实质,摸索利用植物生长调节剂提高抗寒力的可能性,我们应用Ries于1975年发现、1977年提纯、并经一些单位试用认为能提高植物代谢水平的三十烷醇进行试验,以期积累资料,为今后继续研究和开展田间抗寒试验提供一些依据。

材 料 和 方 法

供试材料是一般栽培条件下新植“台糖134”六个月株龄的生长正常的植株,沿叶喉处剪下+3叶*,用清洁毛巾和去离子擦净叶片,分别把叶片基部浸入不同浓度的三十烷醇液中,分三种处理:1ppm溶液,0.1ppm溶液,对照(去离子水)。

处理12小时取出,剪出去叶片上部和基部,留下叶片中段。剪去中段的叶边缘和中脉后,把叶片剪成3厘米长、1厘米宽的小块,10块为一组,同一组内的各小块来自不同的叶片,总重量为 750 ± 1 毫克。各组叶小块均用去离子水漂洗三次,以清洁滤纸吸去叶表面的水分,平铺于培养皿中,分别放在黑暗的 $0 \sim 2^{\circ}\text{C}$ 、 $8 \sim 10^{\circ}\text{C}$ 和 $28 \sim 30^{\circ}\text{C}$ 条件下,经4、8、12、24小时,分别将各组叶小块取出,浸入盛有25毫升去离子水的三角瓶中,置于 $28 \sim 30^{\circ}\text{C}$ 条件下浸提3小时,取出叶小块,用DDS-IIA型电导率仪测定浸提液的电导度。与此同时,配制一系列浓度的NaCl溶液,测定电导度,并作成标准曲线。从各处理浸提液的电导度查对标准曲线,则可用NaCl溶液浓度(ppm)来表示叶组织的透性,各处理透性的测定均重复2~3次。

关于浸提液中氨基酸的微量分析,取各处理的浸提液40ml,盛于蒸发皿中,同时置于 60°C 恒温水浴锅上蒸发,浓缩为0.5ml,加入浓度80%的酒精2毫升,混匀,作为分析氨基

* + 3叶是栽培术语

酸的样品，然后把样品点在新华1号滤纸上，以正丁醇、冰醋酸、95%酒精和去离子水按4:1:1:2混匀作溶剂，作单向纸层析，重复二次，当溶剂前沿到达距离滤纸上端1厘米处，取出滤纸，放在60°C的烘箱内数分钟，然后取出，均匀地喷洒0.1%茚三酮，再放入烘箱30分钟，即能显出各种氨基酸的色谱，将各色斑用铅笔圈好，计算Rf值，根据标准氨基酸在相同条件的Rf值来确定样品的氨基酸种数，并根据色斑的大小比较各种氨基酸的含量。

叶绿素含量是用80%的丙酮研磨叶小块进行提取，提取液过滤、定容后，以721型分光光度计测定。

结 果

一、低温对透性的破坏和三十烷醇的效应

经低温处理的蔗叶组织，其透性发生明显变化，现将所获数据列于表1、图1和图2。

表1 不同处理叶组织透性的比较

三十烷醇的浓度	28~30°C				8~10°C				0~2°C			
	4	8	12	24	4	8	12	24	4	8	12	24
1ppm	3.7	3.7	5.7	5.1	14.8	36.0	36.5	42.4	58.4	92	102.4	104
0.1ppm	3.7	3.5	5.5	4.8	15.8	34.2	36.0	40.2	82.0	98	106.5	115
对照(去离子水)	3.8	4.8	5.5	5.0	15.2	38.0	41.0	63.0	81.0	107	110.0	126

单位: NaCl 溶液的 ppm 浓度

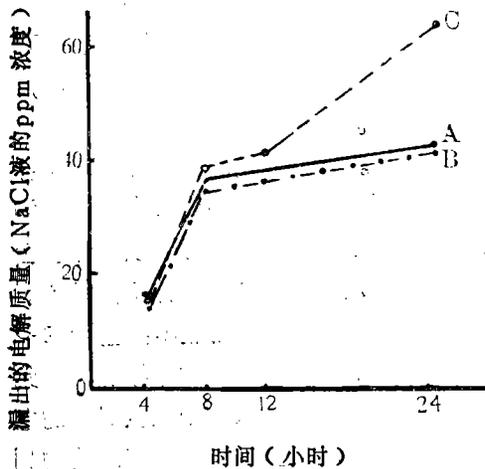


图1 在8~10°C条件下延长处理时间对蔗叶漏出电解质的影响

A: 1ppm三十烷醇处理 B: 0.1ppm三十烷醇处理
C: 对照

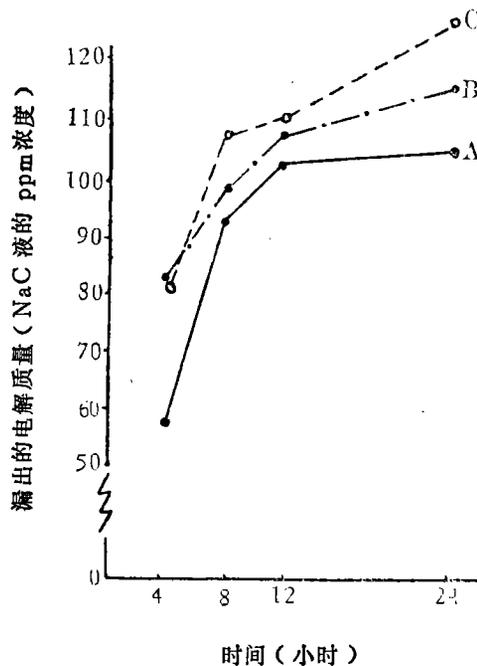


图2 在0~2°C条件下延长处理时间对蔗叶漏出电解质的影响

A: 1ppm三十烷醇处理 B: 0.1ppm三十烷醇处理
C: 对照

从表 1 和图 1 与图 2 可看出, 离体蔗叶组织在28~30℃条件下, 经过24小时, 透性变化较小, 说明细胞内的膜系统较稳定。但在低温条件下, 随处理时间延长, 各处理的叶组织透性均增加。只要蔗叶处于低温下 4 小时, 叶组织漏失的电解质就比28~30℃条件下多 3 或20 倍, 表明蔗叶对低温十分敏感, 三十烷醇的预先处理, 对于叶组织的透性在低温下的破坏有一定保护作用。在 8~10℃条件下, 三十烷醇的这种良好效应在经受12或24小时的低温处理才显现出来, 分别使叶组织漏出的电解质比对照减少11~36.2%。在0~2℃条件下, 只经 8 小时, 三十烷醇减少叶组织漏出物的效应即表现出来。低温持续期延长, ppm的处理比0.1ppm的效果好些。

二、低温对叶组织氨基酸渗出的影响和三十烷醇的效应

不同处理的叶组织, 处于不同温度条件下, 其渗出的氨基酸种数和含量存在明显差别(表 2)。在28~30℃条件下, 无论经过 8 小时或24小时, 叶组织渗出的氨基酸数量均少, 只有甘氨酸或谷氨酸与天冬氨酸。三十烷醇的处理和对照的叶组织渗出氨基酸的数量, 未发现差别。

在低温条件下, 叶组织浸出氨基酸的种数比28~30℃的处理多, 尤以0~2℃条件下处理24小时的叶组织, 其氨基酸渗出数量最多, 色谱中异亮氨酸、色氨酸和酪氨酸的出现, 是与短期(8小时)的0~2℃处理或长期(24小时)的8~10℃处理明显不同之处。

三十烷醇的预先处理具有减少低温条件下叶组织氨基酸渗出的效应。在0~2℃条件下经过 8 小时, 三十烷醇处理的叶组织渗出 8 种氨基酸, 而对照渗出10种, 各种氨基酸的量亦以后者较多。在同样低温下经过24小时, 三十烷醇处理的叶组织其渗出的氨基酸与 8 小时的处

表 2 不同处理叶组织渗出氨基酸的比较

氨基酸名称	1ppm三十烷醇处理						对 照					
	28~30℃		8~10℃		0~2℃		28~30℃		8~10℃		0~2℃	
	8小时	24小时	8小时	24小时	8小时	24小时	8小时	24小时	8小时	24小时	8小时	24小时
亮氨酸					++				+		++	+++
缬氨酸						+					+	++
甲硫氨酸					++				++		++	
丙氨酸					+						++	++
苏氨酸					++						++	++
谷氨酸		++	+++		+	+++		++		+++	++	
天冬氨酸		++		+++	+	+++		++	++	+++	++	+++
组氨酸				++	+	++				+++	+++	+++
半胱氨酸					+	++					++	++
胱氨酸											+	
甘氨酸	+						+		++			+++
异亮氨酸						+						++
色氨酸						+						+++
酪氨酸						+						+++
合计	1	2	1	2	8	8	1	2	4	8	10	11

注: +→++++ 少→多

理相比, 虽名称上有些变化, 含量有所增多, 但全部氨基酸仍维持 8 种, 而对照叶组织在相同条件下渗出的氨基酸增至 11 种, 且各种氨基酸的量增加甚多, 表明三十烷醇的处理与对照的差别十分明显。

三、不同处理的叶绿素含量

各处理经历 24 小时后, 立即测定叶绿素含量, 结果列于表 3。

表 3 不同处理经历 24 小时后的叶绿素含量

单位: 毫克/克鲜重

处 理	28~30°C	8~10°C	0~2°C
1ppm 三十烷醇	0.77	1.23	1.02
0.1ppm 三十烷醇	0.82	1.09	0.98
对 照	0.71	1.04	0.95

从表 3 看出, 无论是经三十烷醇处理过的叶组织, 还是对照的叶组织, 在 28~30°C 条件下经历 24 小时, 叶组织的叶绿素含量均比低温处理的少些, 可能是较高温条件下, 活组织消耗物质较多, 由于离体的叶组织处于暗处, 不能制造和获得有机物供应, 从而加快了叶绿素分解所致。不过, 在本实验的高温或低温条件下, 经三十烷醇处理的叶组织, 其叶绿素含量均高于对照。这项结果与其他研究者对玉米、茄子等作物的实验所指出的三十烷醇有利于叶绿素含量的维持和提高的情形是一致的^[8]。

讨 论

低温对离体蔗叶组织透性的破坏与低温程度和作用时间密切相关, 这与前人研究甘薯、玉米、蚕豆的根组织和黄瓜, 咖啡的叶组织所获结果相似^[4,5]。蔗叶在 0~2°C 条件下 4 小时, 细胞的电解质漏出量比 28~30°C 处理的多 20 倍, 这与咖啡叶组织在 2.5°C 条件下处理 6 小时, 细胞电解质漏出量比 25°C 条件的多 22 倍的报导十分近似^[1], 表明甘蔗与咖啡同属热带作物, 抗寒力甚弱。

关于零上低温破坏细胞透性的机理, 与生物膜受到破坏有关。Lyons 等指出^[5], 低温对膜的危害, 主要由于加速了膜的液晶态转变到凝胶态的物理变化过程, 导致膜结构收缩, 出现裂缝和通道, 因而使透性增加, 细胞内电解质大量漏失。这种观点, 获得 Niki 等人以电子显微镜观察植物细胞内质网、液泡膜等结构确易受低温破坏所证实^[8]。从本试验结果看出, 0~2°C 条件下 24 小时的处理, 细胞电解质漏失量最多, 比 28~30°C 的处理多 24.3 倍, 其原因可能是本实验条件下该处理的膜结构遭受最严重破坏的缘故。

本实验的结果表明, 低温条件下透性的破坏与氨基酸渗出量的增多相伴发生, 究其原因, 可能是由于膜相变化, 促使蛋白质合成与分解的两类酶系之间的平衡遭受破坏, 分解作用加强, 结构的和非结构的蛋白质大量降解所致^[5], 尤其值得注意的是, 在 0~2°C 条件下处理 24 小时, 叶组织渗出物中出现了其它处理未发现的异亮氨酸和芳香族的酪氨酸和色氨酸。Murata 等研究寒害的香蕉果实组织, 也曾发现芳香族氨基酸 (如酪氨酸) 的明显增加, 并认为是组织受害变黑的内因^[5]。由此看来, 蔗叶组织遭受低温的严重危害, 与香蕉受害机理颇有相同之处。从芳香族氨基酸的形成途径看, 它们都由磷酸戊糖循环的中间产物 4-

磷酸赤藓糖与糖酵解的中间产物烯醇式磷酸丙酮酸共同作用和转变成莽草酸，进一步变成预苯酸，然后在脱氢酶、转氨酶等催化下才能生成芳香族氨基酸的。严重寒害的组织，芳香族氨基酸积累和大量渗出，似乎暗示呼吸代谢途径遭到了严重的干扰和破坏。据此，人们鉴别蔗叶组织遭受低温危害是否达到严重程度，检验组织是否渗出芳香族氨基酸，也许是一种可取的方法。

本实验以三十烷醇预先处理蔗叶，在一定程度上能减轻低温的危害。处理过的蔗叶，在低温条件下漏失电解质较少。据报道，〔2,9,10〕三十烷醇广泛存在于植物蜡质中，它能提高植物暗中合成蛋白质的能力和增加干重。我们认为，三十烷醇的这些效应，可能是减轻蔗叶受低温危害的重要原因。除此以外，三十烷醇还可能对于低温条件下的细胞膜从液晶态转变成凝胶态的进程具有缓解作用，并在维护细胞其它部分超微结构的完整性方面，也可能具有一定的作用。

在生产上，某些地区的甘蔗常遭低温袭击，造成损失，这是一个十分重要而亟待研究解决的问题，除了从品种选育和栽培管理上采取有效的抗寒、防寒的措施外，看来，选用某些植物生长调节剂和其它化合物来提高甘蔗抗寒力，也是需要研究的课题。本实验初步看出三十烷醇对离体蔗叶减轻低温危害有一定作用，但在情况复杂的田间条件下，这种效应能否反映出来，值得继续探索。

参 考 文 献

- 〔1〕 郭金铨，1979：植物生理学报，5卷3期
- 〔2〕 翁杰等，1979：厦门大学学报，第一期
- 〔3〕 吴尔福等，1980：山东农业科学，第二期
- 〔4〕 Lieberman, M. et al, 1958: Plant Physiology, 33, 307—311
- 〔5〕 Lyons J.M. 1973: Ann Rev Plant Physiol. ogy24
- 〔6〕 Yamaki, S. Uritani, I. 1973: Plant Physiol. ogy51
- 〔7〕 Yoskida, S.Sakai, A.1974: Plang Physiol.ogy53
- 〔8〕 Niki, T .Yoskida, S.Sakai, A.1978: Plant and Cell Physiol.19(1)
- 〔9〕 Ries, S. K. et al 1977: Science 195
- 〔10〕 Bittesbender, H. et al, 1978: Plant Phytology, 61