

冬小麦(*Triticum aestivum*) 进入寒冬过程中分蘖节细胞 内酸性磷酸酶活性的超微结构定位

孙龙华 孙德兰 简令成

(中国科学院植物研究所细胞室)

植物细胞酸性磷酸酶活性的细胞化学的定位研究已有一些报道^[1,2,3], 揭示它在碳水化合物代谢及其筛管胼胝体沉淀等生理生化过程中可能起着一定的作用。然而, 有关酸性磷酸酶的生理功能目前的了解还甚少, 同时对于它的定位分布也有各种不同的报道^[2,33]。鉴于酸性磷酸酶在液泡膜上和液泡内表现很高的活性^[1,2], 并且已知液泡在植物进入寒冬过程中发生许多显著的变化^[4]。故推测在抗寒锻炼中, 酸性磷酸酶也可能有变化, 并可能在植物抗寒力的发展中具有一定的作用。因此, 我们采用经典的铅沉淀法, 对冬小麦从秋季到寒冬时期分蘖节细胞内的酸性磷酸酶活性进行了细胞化学的定位观察。

材料与 方法

冬小麦品种为新冬一号, 种子由新疆农科院浪作所提供。1982年9月26日播于实验地。于同年10月20日, 12月9日以及翌年1月10日分别采取麦苗, 剥出分蘖节, 切成小于 0.5×0.5 mm的组织块, 用50 mmol/L二甲胂酸钠缓冲液(pH 7.2)配制的3%戊二醛和4%甲醛混合液, 于室温下固定1.5小时。固定完成后, 先用二甲胂酸钠缓冲液洗二次, 再用醋酸缓冲液洗二次, 每次30分钟。然后将材料转移到酶反应液中, 酶反应液的组成是: 0.05 mol/L醋酸缓冲液(pH 5)中含 β -甘油磷酸钠8 mol/L, 硝酸铅2.4 mmol/L, 在22°C恒温箱中培育反应2.5小时。作了两种对照反应: ①反应液中不加 β -甘油磷酸钠; ②反应液中加入0.01 mol/L氟化钠抑制剂。

酶活性反应后, 用二甲胂酸钠缓冲液(pH 7.2)洗三次, 每次30分钟。再用以上缓冲液配制的2%锇

酸, 在2—3°C下第二次固定过夜。用重蒸蒸馏水洗涤3小时。随后按常规用各级酒精脱水, 环氧树脂Epon 812包埋。用LKB-8800型超薄切片机切片, 醋酸铀染色, 在H-300型和JEM-100 cx型电子显微镜下观察和照相。

结果与 讨论

一、麦苗秋季生长期酸性磷酸酶活性的定位分布

关于酸性磷酸酶活性的定位, 以往的报道指出, 它主要分布于液泡、核内染色质以及细胞壁和细胞间隙中^[1,2,5], 此外, 在内质网和高尔基小泡内以及核膜上也观察到酸性磷酸酶的高活性^[6,7]。我们对冬小麦分蘖节细胞的观察结果表明, 在秋季麦苗旺盛生长期, 酸性磷酸酶主要定位于液泡膜上和液泡内含物的周围, 核内染色质上, 以及细胞间隙周围的细胞壁表面和细胞间隙的内含物上(图1—2)。在细胞壁内以及一些细胞的质膜上和局部的细胞质中也有较弱的活性反应; 但在内质网上没有观察到明显的反应产物。Sexton等(1971)曾报道玉米和豌豆根尖细胞的核仁表现很高的酸性磷酸酶活性。在冬小麦分蘖节细胞内, 无论是秋季或寒冬, 核仁上始终不显示酸性磷酸酶的活性反应(图2)。

关于酸性磷酸酶在液泡膜上的定位情况, 我们通过仔细的观察发现, 酸性磷酸酶是分布在液泡膜的内侧, 因为所有的反应产物都是向着液泡内发展, 参差不齐; 而在液泡膜的外侧, 即连接细胞质的一面, 反应产物的分布十分整

齐, 严格保持在界面以内, 没有向细胞质内发展(图1和图3)。

二、寒冬中酸性磷酸酶活性分布的变化

图3显示12月9日取样的分蘖节细胞内酸性磷酸酶活性的分布状态, 表明在寒冬到来时, 液泡膜内侧和液泡内含物表面以及核内染色质上的酸性磷酸酶仍保持高的活性; 此时最引人注意的变化是, 在质膜上以及质膜和细胞壁之间表现出该酶的高活性反应。由于冬小麦经过低温锻炼后, 细胞发生一定程度的脱水, 形成质壁分离, 致使这一现象表现得非常明显(图3)。

在仲冬(1月10日)固定材料的分蘖节细胞中, 酸性磷酸酶的活性反应基本上保持着12月9日样品中所观察到的情况, 即此时的突出特征是在质膜上以及质膜和细胞壁分离的间隙内产生酸性磷酸酶的高活性(图5)。

以往的大多数研究报道都指出, 质膜上不表现酸性磷酸酶活性, 然而Figier(1972)^[8]和Heinrich(1975)^[9]在花瓣蜜腺细胞的质膜上观察到很高的活性反应。我们的观察结果表明, 在麦苗秋季活跃生长期, 质膜上不表现酸性磷酸酶活性或活性很低; 然而当麦苗进入寒冬时期, 在质膜上以及质膜和细胞壁分离的间隙内产生酸性磷酸酶的高活性反应。Catesson和Czaninski(1967)^[10]在木本植物悬铃木和刺槐的冬季休眠时期也曾观察到此种情况。这说明, 质膜上的酸性磷酸酶活性是随着环境条件和细胞生理状态的变化而变化。越冬植物在冬季低温中, 体内的水分首先是在细胞间隙和质壁分离空间内结冰, 从而避免细胞内结冰的致死性伤害。因此似乎可以推测, 当寒冬到来时, 质膜及其与细胞壁之间以及细胞间隙内产生酸性磷酸酶的高活性是对细胞内的水流到原生质膜以外结冰的一种适应。即通过它的活性作用, 使细胞内的水流到细胞外结冰, 避免细胞内结冰的伤害。

摘 要

冬小麦分蘖节细胞内的酸性磷酸酶活性在

麦苗秋季的活跃生长期, 主要定位于液泡膜内侧和液泡内含物周围, 核内染色质上, 以及细胞间隙周围的细胞壁表面和细胞间隙的内含物上, 到寒冬时期, 除保持以上各部位的活性外, 突出的变化是在质膜上以及质膜和细胞壁分离的间隙内产生该酶的高活性。作者认为, 这可能是对植物在寒冬中细胞内水流到细胞外结冰, 避免细胞内结冰伤害的一种适应。

图版说明

图1—2, 秋季生长期(10月20日)的分蘖节细胞。酶活性主要定位于液泡膜上和液泡内含物的周围、染色质以及细胞间隙周围的细胞壁表面和细胞间隙的内含物上。图1, $\times 11500$ 。图2, $\times 10400$ 。V: 液泡。Vm: 液泡膜。CH: 染色质。PL: 质膜。N: 核仁。Pd: 胞间连丝。Is: 细胞间隙。W: 细胞壁。

图3—4, 寒冬中(12月9日)的分蘖节细胞。液泡内侧和液泡内含物表面表现酸性磷酸酶的高活性, 特别是质膜和细胞壁之间也呈现大量的反应产物。图3, $\times 14400$ 。图4, $\times 12200$ 。

图5, 仲冬(1月10日)固定的材料。在质膜以及质膜和细胞壁分离的间隙内, 突出地显示出酶的高活性反应。图5, $\times 8900$ 。

参 考 文 献

- [1] Sexton, R.; Cronshaw, J. and Hall, J. L., 1971, *Protoplasma*, 73 : 417—441.
- [2] Bentwood, B. J. and Cronshaw, J., 1976, *Planta*, 130 : 97—104.
- [3] Sauter, J. J. 1977, *Z. Pflanzenphysiol.*, 81 : 483—458.
- [4] 简令成, 1983, 植物学通报, 1 : 17—23.
- [5] Hasegawa, Y.; Lynn, K. R. and Brockbank, W. J., 1976, *Can. J. Bot.* 54 : 1163—1169.
- [6] Zee, S. Y., 1969, *Aust. J. Biol. Sci.* 22 : 1051—1054.
- [7] Catessen, A. M., 1973, *J. Microsc. (Paris)*, 16 : 95—104.
- [8] Figier, J., 1972, *Planta*, 108 : 215—226.
- [9] Heinrich, G., 1975, *Cytobiol.*, 11 : 247—263.
- [10] 简令成、董合铸、孙龙华, 1980, 实验生物学报, 13 : 135—145.
- [11] Catesson, A. and Czaninski Y., 1967, *J. Microsc. (Paris)*, 6 : 509—514.