

# 热胁迫下萝卜不同耐热性品种 细胞组织结构比较\*

韩笑冰 利容千 王建波

(武汉大学植物科学系 武汉 430072)

**提 要** 利用显微及扫描电镜方法,研究热胁迫下萝卜不同耐热性品种外部形态、叶片及叶柄组织细胞结构的差异。耐热性品种比感热性品种叶表皮气孔密度大、体积小和开度小,部分呈关闭状态;叶片厚、叶肉细胞排列紧密,叶肉细胞很少出现质壁分离;耐热性品种叶柄内维管束总面积是感热性品种的 1.5 倍以上,具发达的形成层及厚壁组织。讨论了耐、感性品种结构差异与保持水分、免受高温失水伤害的关系。

**关键词** 萝卜,热胁迫,显微结构

高温使植物形态结构发生的变化是热胁迫对植物影响最直观的表现。这方面,国外在大白菜、小麦、玉米等作物上有一些研究<sup>[1~4]</sup>,但国内报道还很少<sup>[5,6]</sup>。热胁迫下植物形态结构的研究是进行生理生化、热激蛋白等研究的条件和基础。我们通过对热胁迫下萝卜不同耐热性品种外部形态、叶片及叶柄细胞组织结构差异的研究,为农业育种提供了一些判断品种耐热性的细胞学指标,也为植物耐热性机制的研究提供部分细胞学资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

萝卜(*Rapshanus sativus L.*)3个品种:耐热性品种(夏抗四十天);中等耐热性品种(短叶十三号);感热性品种(黄州萝卜),由武汉市蔬菜科学研究所张雪清同志提供。

萝卜3个品种于1994年7月21日在武汉市蔬菜科学研究所播种,大田管理。利用1994年7~8月持续自然高温(日平均最高气温35℃)(见表1)对大田材料热处理,于9月7日取不同耐热性品种第5片营养叶中脉附近的叶片,及同一叶的叶柄中段,迅速放入FAA或卡诺固定液中固定。

\* 收稿日:1995-11-21,修回日:1996-03-14。第一作者:女,26岁,助教(硕士)。

\* 国家自然科学基金资助课题。

表 1 材料热处理期温度记录

Table 1 Temperature of heat treatment

项目 Item	采样日期(日/月) Sampling date (Day/Month)													
	22/7	23/7	24/7	25/7	26/7	27/7	28/7	29/7	30/7	31/7	1/8	2/8	3/8	4/8
最低温度(℃) The lowest temperature	27	27	28	28	29	28	28	27	23	24	25	26	29	30
最高温度(℃) The highest temperature	36	36	37	37	37	38	38	36	32	34	35	37	39	39
项目 Item	采样日期(日/月) Sampling date (Day/Month)													
	5/8	6/8	7/8	8/8	9/8	10/8	11/8	12/8	13/8	14/8	15/8	16/8	17/8	18/8
最低温度(℃) The lowest temperature	30	30	26	27	26	27	28	30	30	28	28	27	26	27
最高温度(℃) The highest temperature	38	36	35	35	34	34	35	38	38	36	35	34	34	35
项目 Item	采样日期(日/月) Sampling date (Day/Month)													
	19/8	20/8	21/8	22/8	23/8	24/8	25/8	26/8	27/8	28/8	29/8	30/8	31/8	A*
最低温度(℃) The lowest temperature	27	26	26	25	24	25	23	25	26	25	25	25	25	26.7
最高温度(℃) The highest temperature	35	34	34	30	27	30	30	34	36	35	34	34	34	35.0

\* A: 平均温度(℃)(Average temperature)。

## 1.2 实验方法

(1) 扫描电镜制样: 将固定的材料经系列乙醇脱水, 乙酸异戊酯过渡至真空干燥, Elko-IB<sub>3</sub> 离子溅射器镀膜, 日立 S-450 扫描电镜观察、拍照。

(2) 石蜡切片制样: 将材料切成 5 mm×5 mm 大小固定, 按《生物显微技术》<sup>[7]</sup>中的方法进行脱水、包埋。切片厚度 10 μm, 经铁矾-苏木精染色制成永久制片, OLYMPUS BH-2 型显微镜观察、拍照。

## 2 观察结果

### 2.1 外部形态及叶表皮细胞结构

萝卜不同耐热性品种在热胁迫环境中, 经过相同的生长条件和生长时间, 其外部形态差异如下: 耐热性品种(夏抗四十天)叶形为板形叶, 叶表面积大, 呈深绿色, 功能叶较多; 地下部分生长较快, 根部膨大; 根茎联系部位粗壮。感热性品种(黄州萝卜)叶形为缺刻叶, 叶表面积较小, 颜色较浅, 功能叶片数不及耐热性品种多; 地下部分生长缓慢, 高温期间根部几乎不膨大; 根茎联系部分较细弱。中等耐热性品种(短叶十三号)各部分形态居二者之间(图版 I:1)。

对萝卜不同耐热性品种叶片下表皮进行扫描电镜及光镜观察, 发现 3 个品种叶表皮细胞结构、气孔形状都相同(图版 I:2,3); 但不同耐热性品种的气孔分布密度、气孔大小及开放程度都有一定的差别。耐热性品种(夏抗四十天)气孔密度为 481 个/mm<sup>2</sup>, 气孔体积小, 且开张度小, 大部分呈关闭状态(图版 I:2,4); 中等耐热性品种(短叶十三号)气孔密度为 442 个/mm<sup>2</sup>, 气孔体积中等, 部分呈关闭状态, 开张度较小; 感热性品种(黄州萝卜)气孔密度为 347 个/mm<sup>2</sup>, 气孔体积比耐热性品种大, 很多气孔呈开放状态, 开张度较大(图

版 I:3,5)。

## 2.2 叶片及叶柄显微结构

### 2.2.1 叶片组织结构

萝卜耐热性品种(夏抗四十天)叶片横切面显示结构如下:叶表皮细胞较小,排列紧密,无胞间隙;栅栏组织排列紧密,平均厚度为0.141 mm,海绵组织排列较整齐,很少发生质壁分离现象;上表皮气孔关闭,气孔腔很小,下表皮气孔个别开放,但开放度很小,气孔腔也较小;叶脉维管束较发达(图版 I:6);叶片的平均厚度为0.252 mm。

萝卜感热性品种(黄州萝卜)叶片横切面显示结构如下:表皮细胞排列不太整齐,细胞间隙较大;栅栏组织、海绵组织排列较为疏松(图版 I:8),栅栏组织平均厚度0.107 mm;叶肉细胞出现大量质壁分离现象(图版 I:9);叶片上表皮气孔开放度很大,且气孔腔很大,下表皮气孔向外凸出叶片,呈现很大的开放度,及暴露出大面积的气孔腔(图版 I:9);叶脉维管束相对不发达;叶片平均厚度为0.192 mm。

萝卜中等耐热性品种(短叶十三号)叶片横切面,显示结构基本类似于耐热性品种,其差异表现在表皮细胞排列不如耐热性品种紧密,有一定的细胞间隙,叶片下表皮气孔部分呈开放状态,但开放度较小(图版 I:7)。叶片平均厚度为0.245 mm,栅栏组织厚度0.133 mm。

### 2.2.2 叶柄维管束的分布与结构

萝卜叶柄横切面为半圆形,外为表皮,表皮以内为基本组织,维管束呈弧形排列在基本组织中。萝卜不同耐热性品种的叶柄维管束,在数目、大小、结构上有明显的不同。

耐热性品种(夏抗四十天)叶柄横切面上,可见大小不等的维管束共18组,维管束横切面总长度7.712 mm;在有些维管束的内方,分布有小维管束,数目共为7个,小维管束横切面总长0.745 mm;叶柄内最大的一组维管束由8个维管束单位组成,横切面积为1.216 mm<sup>2</sup>,内方有2个小维管束(图版 II:1);维管束内形成层、木质部、韧皮部都很发达(图版 II:8);维管束内外均有较多的厚壁组织,维管束排列紧密(图版 II:2)。

感热性品种(黄州萝卜)叶柄横切面上共观察到15个维管束组,维管束横切面总长度为5.077 mm;仅观察到两例小维管束,其横切面总长0.112 mm;叶柄内最大的一组维管束由5个维管束单位组成,横切面积为0.4207 mm<sup>2</sup>,排列不紧密(图版 II:3);木质部、韧皮部都不如耐热性品种发达(图版 II:7);形成层也不很发达;起支持作用的厚壁组织较少(图版 II:4)。

中等耐热性品种(短叶十三号)叶柄横切面上共有12个维管束组,维管束横切面总长5.355 mm;其中2个小维管束横切面总长0.163 mm;最大一组维管束由6个维管束单位组成,横切面积为0.502 mm<sup>2</sup>(图版 II:5);结构紧密性居于耐热与感热性品种之间,维管束内方厚壁组织较发达(图版 II:6)。

## 3 分析讨论

(1) 在萝卜的生长过程中,给予一定时间的高温胁迫,将使不同耐热性品种的外部形态及内部结构都表现出明显的差异。根据以前的研究资料表明,不同耐热性品种在热胁迫下出现的形态差异是与植物的耐热性直接相关的<sup>[1]</sup>。

(2) Ristic 和 Cass 报道,高温干旱造成的植物脱水作用与植物热胁迫后所受到的伤害密切相关。感热性品种在高温、干旱条件下大量脱水,使细胞、组织结构遭到严重破坏,而耐热性品种则通过各种途径保持水分,使之避免伤害<sup>[8]</sup>。这可以通过植物受热胁迫前后相对含水量的变化及植物叶片水势和膨压的变化予以证明<sup>[4,9]</sup>。

(3) 通过大白菜、玉米、小麦等作物不同耐热性品种在热胁迫下表现的研究发现,耐热性品种叶片厚,叶柄粗壮,根系发达;气孔密度大,而气孔器体积减小,开度减小;具有发达的维管束以保证水分的运输<sup>[4,10]</sup>。证明耐热性品种的细胞组织结构能更好地吸收和保持水分,有效地避免水分的过度蒸发,保证快速充分的水分运输,使植物耐受高温环境胁迫<sup>[1,11]</sup>。

(4) 本实验通过比较萝卜不同耐热性品种叶片、叶柄的细胞组织结构发现,耐热性品种的结构特征与以上作物耐热性品种结构相符;尤其是耐热性品种叶片厚度是感热性品种叶片厚度的1.3倍,耐热性品种叶柄维管束总面积是感热性品种的1.5倍以上,且有较活跃的形成层活动,形成更多的小维管束,使水分、养料运输加强。可以证明,耐热性品种的结构使之在高温胁迫下能有效地吸收、保持水分,阻止水分过度蒸发,防止脱水而造成伤害;反之,感热性品种则缺少这种机制,其叶肉细胞中出现的较严重质壁分离现象,就是叶片缺水的直接证明。这与在大豆根细胞及玉米叶片细胞中热胁迫后产生的质壁分离现象是一致的<sup>[2,8]</sup>。

(5) 耐热性品种通过以上结构保持水分,使植物体内有足够的结构水及功能水,以防止因失水而造成的伤害。另一方面耐热性品种又有相应的机制,以忍耐和适应因减少水分蒸发而造成的高温胁迫,这在生理、生化等方面已有一些探讨<sup>[12,13]</sup>。要进一步认识植物的耐热性机制,还需要将形态结构、生理生化、遗传育种、分子机制等各方面结合起来进行更深入的研究。

## 参 考 文 献

- 1 钟惠宏. 亚蔬中心的耐热大白菜研究. 中国蔬菜, 1991, 4: 51~54
- 2 Chen Y R, Chou M, Ren S S et al. Observation of soybean root meristematic cells in response to heat shock. *Protoplasma*, 1988, 144: 1~9
- 3 Skogqvist I. Induction of heat sensitivity of wheat roots and its effects on mitochondria, adenosine, triphosphate triglyceride, and total lipid content. *Exp Cell Res*, 1974, 86: 285~294
- 4 Ristic Z, David D C. Leaf anatomy of *Zea mays* L. in response to water shortage and high temperature: a comparison of drought-resistant and drought-sensitive lines. *Bot Gaz*, 1991, 152(2): 173~185
- 5 苗琛, 利容千, 王建波. 热胁迫下不结球白菜和甘蓝叶片组织结构的变化. 武汉植物学研究, 1994, 12(3): 207~211
- 6 苗琛, 利容千, 王建波. 甘蓝热胁迫叶片细胞的超微结构研究. 植物学报, 1994, 36(9): 730~732
- 7 郑国锠主编. 生物显微技术. 北京: 人民教育出版社, 1979
- 8 Ristic Z, Cass D C. Chloroplast structure after water shortage and high temperature in two lines of *Zea mays* L.: heat differ in drought resistance. *Bot Gaz*, 1991, 152(2): 186~194
- 9 Pekic S, Quarrie S A. Abscisic acid accumulation in lines of maize differing in drought resistance: a comparison of

- intact and detached leaves. *J Plant Physiol.*, 1987, 137: 203~217
- 10 Quarrie S A, Jones H G. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J Exp Bot.*, 1977, 28: 192~203
- 11 Oppenheimer H R. Adaptation to drought; xerophytism. *Arid Zone Res.*, 1960, 15: 109~138
- 12 江勇,陈克成.热激下小白菜矮杂一号和矮脚黄呼吸作用及游离脯氨酸代谢.武汉大学学报(自然科学版),1994(5):103~110
- 13 Lindquist S, Craig E A. The heat shock proteins. *Annu Rev Genet.*, 1988, 22: 631~677

## CELLULAR STRUCTURAL COMPARISON BETWEEN DIFFERENT THERMO-RESISTANT CULTIVARS OF *RAPHANUS SATIVUS L.* UNDER HEAT STRESS

Han Xiaobing Li Rongqian Wang Jianbo

(Department of Plant Science, Wuhan University Wuhan 430072)

**Abstract** The objective of this study was to investigate the effects of heat stress on leaf and petiole's microscopical structure of different thermo-resistant cultivars of *Raphanus sativus L.* the results obtained are summarized as follows:

Under heat stress, the studied thermo-tolerant cultivars showed higher stomatal density, smaller volume and smaller stomatal opening area on abaxial epidermis than that of thermo-sensitive cultivars. Moreover, we observed those thermo-tolerant cultivars have thicker leaf, denser palisade tissue and smaller stomatic chamber, with more developed vein and much less occurred plasmolysis. Compared to thermo-sensitive cultivar, the petioles of thermo-tolerant cultivar were more study along with more quantity and larger transportation area of vascular stand as well as more active cambium.

Based on these phenomena, the relation between the different structure of thermo-tolerant and thermo-sensitive cultivars were discussed, function of keeping water to avoid injuring under heat stress being discussed as well.

**Key words** *Raphanus sativus L.*, Heat stress, Microscopical structure

## 图 版 说 明

### 图 版 I

1. 萝卜不同耐热性品种的外部形态；2. 耐热性品种气孔结构( $\times 470$ )；3. 感热性品种气孔结构( $\times 470$ )；4. 耐热性品种关闭气孔( $\times 390$ )；5. 感热性品种开放气孔( $\times 390$ )；6. 耐热性品种叶片结构( $\times 150$ )；7. 中等耐热性品种叶片结构( $\times 150$ )；8. 感热性品种叶片结构( $\times 150$ )；9. 感热性品种开放气孔腔( $\times 360$ )

### 图 版 I

1,2,8. 耐热性品种: 1. 叶柄横切, 示最大一组维管束( $\times 34$ ), 2. 示发达厚壁组织( $\times 85$ ), 8. 示活跃形成层( $\times 170$ ); 3, 4, 7. 感热性品种: 3. 叶柄横切, 示最大一组维管束( $\times 34$ ), 4. 示少量厚壁组织( $\times 85$ ), 7. 示不活跃形成层( $\times 170$ ); 5, 6. 中等耐热性品种: 5. 叶柄横切, 示最大一组维管束( $\times 34$ ), 6. 示维管束内方发达厚壁组织( $\times 85$ )

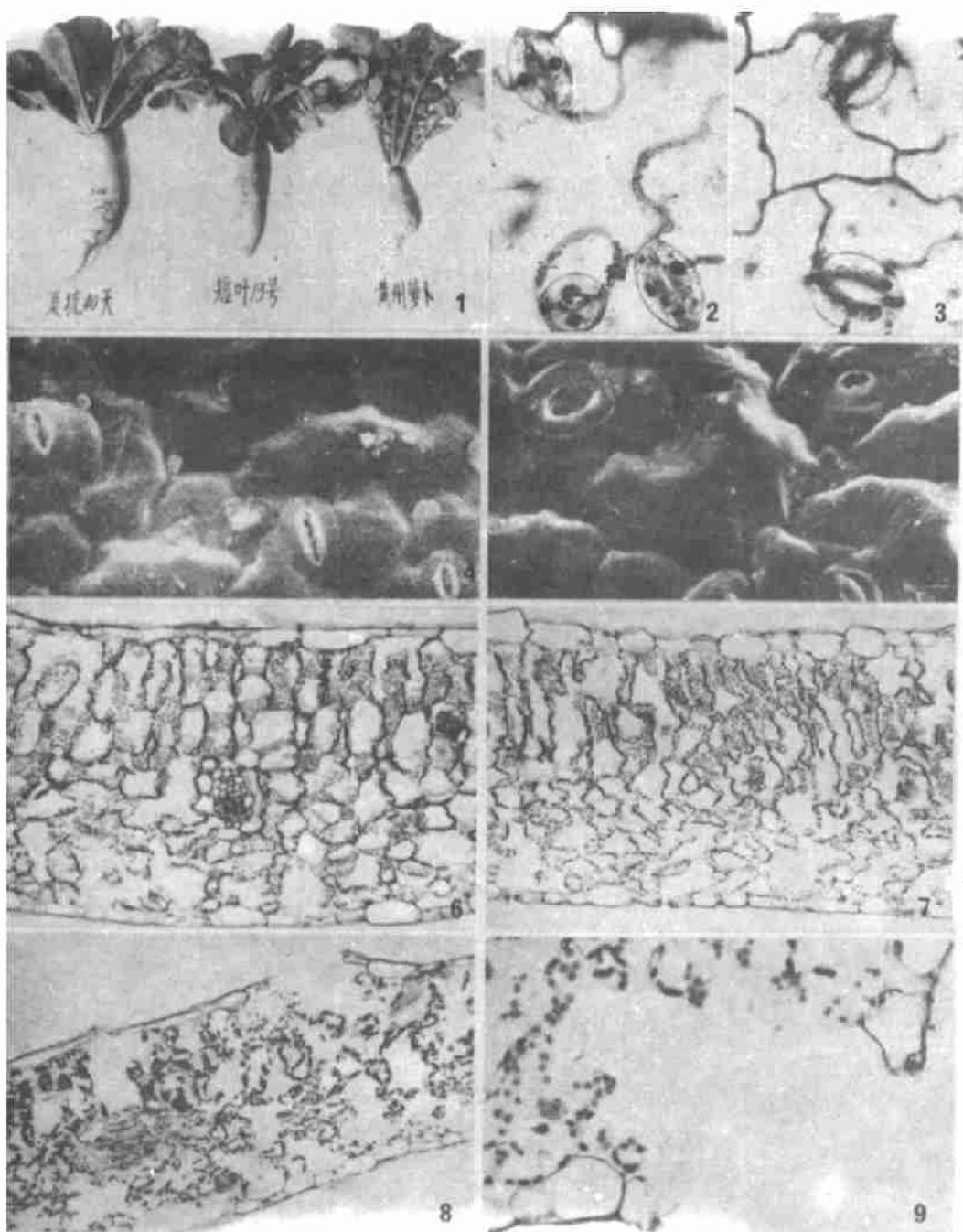
### Explanation of plates

#### Plate I

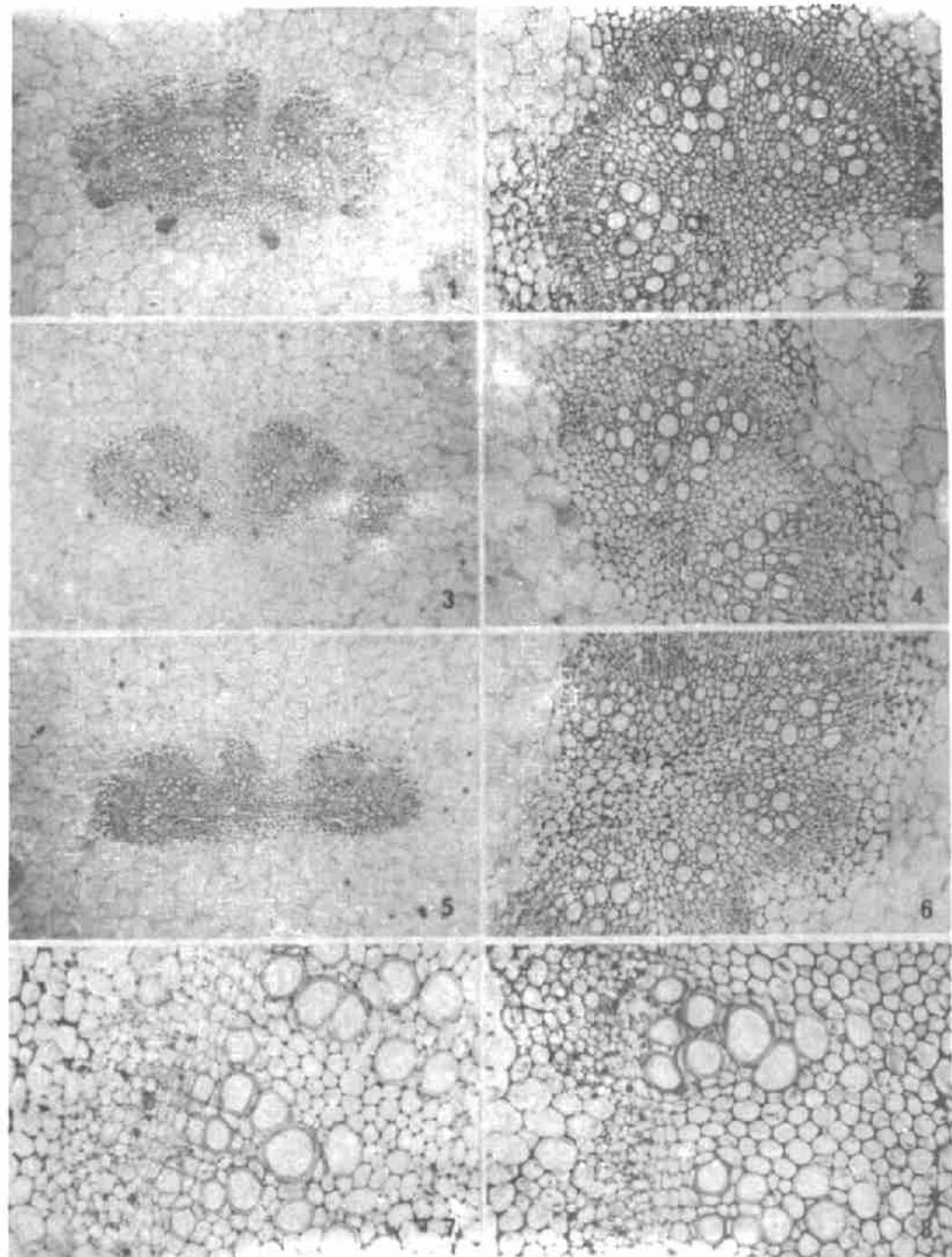
1. Morphology of different thermo-resistant cultivars of *Raphanus sativus* L.; 2. Stomata's structure of thermo-tolerant cultivar( $\times 470$ ); 3. Stomata's structure of thermo-sensitive cultivar( $\times 470$ ); 4. Closed stomata of thermo-tolerant cultivar( $\times 390$ ); 5. Opened stomata of thermo-sensitive cultivar( $\times 390$ ); 6. Leaf's structure of thermo-tolerant cultivar( $\times 150$ ); 7. Leaf's structure of mid-thermo-tolerant cultivar( $\times 150$ ); 8. Leaf's structure of thermo-sensitive cultivar( $\times 150$ ); 9. Opened stomatic chamber of thermo-sensitive cultivar( $\times 360$ )

#### Plate I

1,2,8. Thermo-tolerant cultivar; 1. Transverse section of petiole, the largest group of vascular bundle( $\times 34$ ), 2. More quantity of thick-walled cells( $\times 85$ ), 8. Active cambium layer( $\times 170$ ); 3,4,7. Thermo-sensitive cultivar: 3. Transverse section of petiole, the largest group of vascular bundle( $\times 34$ ), 4. Little quantity of thick-walled cells( $\times 85$ ), 7. Unactive cambium layer( $\times 170$ ); 5,6. Mid-thermo-tolerant cultivar: 5. Transverse section of petiole, the largest group of vascular bundle( $\times 34$ ), 6. More quantity of thick-walled cells inside vascular bundle( $\times 85$ )



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text