

铝胁迫下小麦根尖分生细胞中 Ca^{2+} 分布变化

王建波, 李阳生, 利容千

(1. 武汉大学植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 运用透射电镜细胞化学方法对铝胁迫下小麦根尖分生细胞中 Ca^{2+} 分布的变化进行了观察, 在正常生长条件下, Ca^{2+} 广泛分布于细胞质、细胞核、细胞间隙中, 特别是液泡中有大量的 Ca^{2+} 沉淀颗粒; 在 Al^{3+} 胁迫条件下, 细胞质、细胞核中 Ca^{2+} 沉淀颗粒明显减少, 分布发生改变, 细胞质中液泡增多, 但其中 Ca^{2+} 沉淀颗粒明显减少。结果表明, Al^{3+} 不但抑制了根尖细胞对 Ca^{2+} 的吸收, 而且引起细胞中原有 Ca^{2+} 分布的变化, 这很可能引起细胞功能的紊乱, 进而影响根系的生长。

关键词: 小麦; 根尖分生细胞; 铝胁迫; Ca^{2+} 分布

Changes of Ca^{2+} distribution in root apical meristematic cells of wheat under aluminum stress

WANG Jian-Bo, LI Yang-Sheng, LI Rong-Qian (1. Key Laboratory of MOE for Plant Development Biology Wuhan University, Wuhan, 430072)

Abstract: Changes of Ca^{2+} distribution in root apical meristematic cells of wheat under aluminum stress were observed with electron microscopic-cytochemical method. When the roots grew in non-aluminum environment, it was shown that the calcium antimonate distributed in cytoplasm, nucleus and intercellular spaces, especially in the vacuoles of cytoplasm. When the roots grew in aluminum stressed environment, the number of calcium antimonate in cytoplasm and nucleus decreased, and its distribution changed significantly. Moreover, the number of vacuole increased, but there were few calcium antimonates in vacuoles. This results indicated that not only did aluminum inhibit the uptake of Ca^{2+} by root cells, but also resulted in the changes of Ca^{2+} distribution. Aluminum could disturb cellular metabolism by disrupting Ca^{2+} homeostasis and affect the growth of roots.

Key words: wheat; root apical meristematic cell; aluminum stress; Ca^{2+} distribution

文章编号: 1000-0933(2001)08-1246-05 中图分类号: Q948.113 文献标识码: A

铝是地壳中最为丰富的元素之一, 其中大部分以氧化铝、硅化铝的形式存在, 对植物的生长不构成伤害。然而, 在酸性土壤中, Al^{3+} 的浓度上升, 对植物的生长发育造成很大威胁^[1], 也使农作物大幅度减产^[2,3]。在我国长江以南的热带和亚热带地区, 约有 $1.05 \times 10^7 \text{ hm}^2$ 旱地, 其中红黄壤土地占很大面积, 由于红黄壤具有脱硅富铝化的成土过程, 土壤呈酸性, $\text{pH} 4.5 \sim 5.5$ 。红黄壤限制植物生长的因素不是低 pH , 而是铝的毒害和有机碳、钾、氮、磷、钙、镁等养分的流失^[2,4,5]。

铝离子以几种形式存在, 当 $\text{pH} < 5$ 时, Al^{3+} 占优势, 随着 pH 升高, 形成 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, 在接近中性 pH 时, 形成固态的 $\text{Al}(\text{OH})_3$, 一般认为 Al^{3+} 是主要的植物毒性离子, $\mu\text{mol/L}$ 数量级即可对植物造成毒害^[1]。铝毒的最明显特征是抑制根的生长, 并且其作用的部位仅限于根顶端的 $2 \sim 3 \text{ mm}$, 包括根冠、分生

基金项目: 国家科技攻关(编号: 95-001-01-04)资助项目

收稿日期: 1999-11-09 修回日期: 2000-09-03

作者简介: 王建波(1964~), 男, 河南新郑人, 博士, 教授。主要从事逆境植物细胞生物学研究。

组织及伸长区^[6]。在早期的研究中还注意到,大田中铝毒的症状与缺钙很相似,而且施用 CaSO_4 或 CaCO_3 能够减轻铝胁迫的伤害程度^[7],最近用微电极法对铝胁迫下根尖细胞中游离 Ca^{2+} 浓度的测定,进一步证实 Al^{3+} 抑制 Ca^{2+} 的吸收,并推测其原因是 Al^{3+} 抑制质膜上的 Ca^{2+} 通道^[8,9],但对 Ca^{2+} 在细胞中各部位的分布情况却知之甚少,而这种超微结构分布对于认识 Al^{3+} - Ca^{2+} 相互作用又至关重要^[1,9],因此,本文用焦锑酸鉀沉淀法^[10,11],对铝胁迫下小麦根尖细胞中 Ca^{2+} 的分布进行了观察,以期揭示铝毒的生理生态学机理和合理利用红黄壤土地资源提供依据。

1 材料与方 法

本实验所用材料为普通小麦 (*Triticum aestivum*) 白皮 224 品种,选用萌发后 3 d 的幼苗,对照组于 Hoagland 营养液中进行水培,处理组在同样培养液中加入 $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$,最终浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$ ^[3],处理时间为 12 h。根尖分生组织中 Ca^{2+} 细胞化学定位参照王红等的方法^[11],丙酮系列脱水,Spurr 树脂包埋,LKB-V 型超薄切片机切片,切片不经染色,直接用日立 JEM 100CX/II 型透射电镜观察,该方法可显示细胞中的疏松结合钙^[10]。对照切片用 pH 8.0, 0.1 mol/L 的 EGTA 37 C 处理 2 h,再观察、拍照。

2 观察结果

2.1 正常生长条件下根尖分生细胞中 Ca^{2+} 的分布

经焦锑酸鉀反应后, Ca^{2+} 形成焦锑酸钙沉淀,在透射电镜下呈电子不透明的黑色颗粒。观察结果表明,正常条件下生长的小麦根尖分生细胞中含有丰富的 Ca^{2+} ,主要分布于细胞质、细胞核中。细胞核中,核基质中 Ca^{2+} 较多,沉淀颗粒较大,核仁及染色质中的 Ca^{2+} 较少(图 1-1,图 1-2);细胞质中,除基质中均匀分布的 Ca^{2+} 外,小液泡中 Ca^{2+} 的浓度很高,沉淀颗粒聚集成块,电子密度大,前质体中也有零星的 Ca^{2+} 颗粒出现,但线粒体中几乎没有 Ca^{2+} 颗粒(图 1-2,图 1-3),这一点与在其他植物中的观察结果一致^[10,11];细胞间隙也有 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图 1-3)。切片经过 Ca^{2+} 专一性螯合剂 EGTA 处理后,在原来沉淀颗粒出现的部位形成透明空洞(图 1-4),表明这些沉淀颗粒是 Ca^{2+} 沉淀。通常认为细胞壁是重要的 Ca^{2+} 库,但本实验在细胞壁中未观察到沉淀颗粒,可能是由于焦锑酸鉀沉淀法定位的是疏松结合 Ca^{2+} ,而细胞壁中存在的主要是游离 Ca^{2+} 。

2.2 Al^{3+} 胁迫下根尖分生细胞中 Ca^{2+} 分布的变化

Al^{3+} 胁迫下,小麦幼苗的生长基本正常,但根的生长受到抑制,几乎不再伸长,形态上观察到根弯曲,顶端膨大,变黄,再次表明 Al^{3+} 主要抑制根的伸长,而对苗的生长影响不大。

经过 12 h 的 Al^{3+} 胁迫后,小麦根尖分生细胞中 Ca^{2+} 的含量和分布发生明显改变,其中最明显的特征是质膜内侧出现许多 Ca^{2+} 沉淀颗粒,这些颗粒排列整齐,沿着质膜内侧形成一圈。细胞质基质中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒明显减少,仅局限于一定区域(图 2-1);质体中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒与对照生长条件下相似(图 2-3);细胞核中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒也明显减少,主要分布在染色质(体)中,核仁、核基质中已很少见(图 2-2)。 Al^{3+} 胁迫会造成细胞液泡化^[6],本实验也观察这种现象,液泡增多、增大,但其中的 Ca^{2+} 沉淀明显减少(图 2-3,图 2-4)。在少数细胞间隙中仍可观察到 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图 2-1)。

3 讨论

在植物细胞中, Ca^{2+} 不仅是细胞结构的重要组成部分,而且细胞许多功能的实现需要 Ca^{2+} 的参与,特别是近年来发现 Ca^{2+} 作为胞内第二信使,在传递外界刺激(如光照、高温、低温、盐胁迫、激素等),调节植物生命活动等方面具有重要作用^[10,12,13],因此, Ca^{2+} 的研究深受大家的重视,铝胁迫与 Ca^{2+} 的关系也是研究的重点问题之一^[1]。Huang 等发现 Al^{3+} 明显抑制小麦铝敏感品种对 Ca^{2+} 的吸收,抑制发生得很快,而且当把植株移到不含 Al^{3+} 培养液中之后, Ca^{2+} 的运输又可以很快恢复,但对耐铝品种 Ca^{2+} 运输的抑制作用不明显,他们认为 Al^{3+} 抑制 Ca^{2+} 运输的原初位置在根尖细胞质膜的外侧,很可能是阻塞 Ca^{2+} 通道^[8]。然而,Ryan 等^[4]的研究发现,低浓度 Al^{3+} 抑制根的生长却不抑制 Ca^{2+} 的吸收,在培养液中加入 Na^+ 、 Mg^{2+} 等离子后,促进根的生长,同时又抑制了 Ca^{2+} 的吸收,因此,他们对铝毒是由于 Ca^{2+} 运输受到抑制表示怀疑,认为虽然一定浓度的 Al^{3+} 抑制 Ca^{2+} 吸收并可能是造成铝毒的原因,但低浓度 Al^{3+} 抑制根的生长似乎是由于其他的相互作用引起的^[14]。

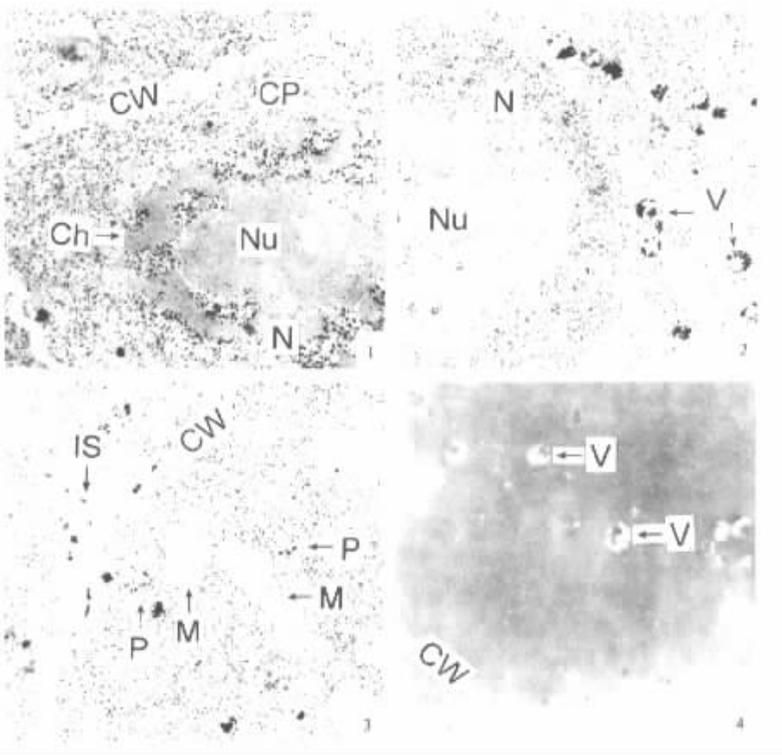


图 1 正常生长条件下小麦根尖分生细胞内 Ca^{2+} 定位

Fig. 1 The localization of Ca^{2+} in the meristematic cells of wheat root growing under normal environment

图 1-1 示细胞核(核仁、染色质、核基质)、细胞质中的 Ca^{2+} 沉淀, $\times 9000$; 图 1-2 示小液泡中的 Ca^{2+} 沉淀, $\times 6500$; 图 1-3 示胞间隙、前质体中的 Ca^{2+} 沉淀, 线粒体中几乎没有沉淀颗粒, $\times 9000$; 图 1-4 经 EGTA 处理后的对照切片, 在原来形成沉淀颗粒的部位形成电子透明区域, $\times 6500$ Ch(染色质), CP(细胞质), CW(细胞壁), IS(胞间隙), M(线粒体), N(细胞核), Nu(核仁), P(前质体), PM(质膜), V(液泡)

Fig. 1-1 The calcium antimonate precipitates visualized in nucleus (including nucleolus, chromatin, nucleoplasm) and cytoplasm, $\times 9000$; Fig. 1-2 Showing the antimonate precipitates in small vacuoles, $\times 6500$; Fig. 1-3 Showing the antimonate precipitates in intercellular spaces and proplastids, but antimonate precipitates were rare in mitochondria, $\times 9000$; Fig. 1-4 Section treated with EGTA, showing electronic transparent areas at the same sites where the antimonate precipitates located before the treatment, $\times 6500$ Ch(chromatin), CP(cytoplasm), CW(cell wall), IS(intercellular space), M(mitochondria), N(nucleus), Nu(nucleolus), P(proplastid), PM(plasmalemma), V(vacuole)

本实验中观察到, 小麦根尖经 Al^{3+} 胁迫后, 分生细胞的核、细胞质基质及液泡中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒明显减少, 表明 Al^{3+} 抑制了细胞对 Ca^{2+} 的吸收。同时, 发现细胞质中的 Ca^{2+} 沿质膜内侧密集分布, 表明 Al^{3+} 不但抑制 Ca^{2+} 的吸收, 还引起细胞中原有 Ca^{2+} 的重新分布, 这种现象在植物受低温胁迫中也有报道^[11], 其原因尚不清楚。细胞中的 Ca^{2+} 稳态是通过 Ca^{2+} 转运蛋白维持的, 这些蛋白可分为两类, 一类调节细胞质中的 Ca^{2+} 外流, 即 Ca^{2+} -ATP 酶和 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 交换系统, 另一类调节 Ca^{2+} 的内流, 即 Ca^{2+} 通道^[12]。为了进一步阐明 Al^{3+} 抑制细胞吸收 Ca^{2+} 的机制, 有必要对这些转运蛋白的分布和活性进行深入研究。

总之, Al^{3+} 胁迫使小麦根尖分生细胞对 Ca^{2+} 的吸收受到抑制, 同时造成细胞的有些部位(如质膜内侧)

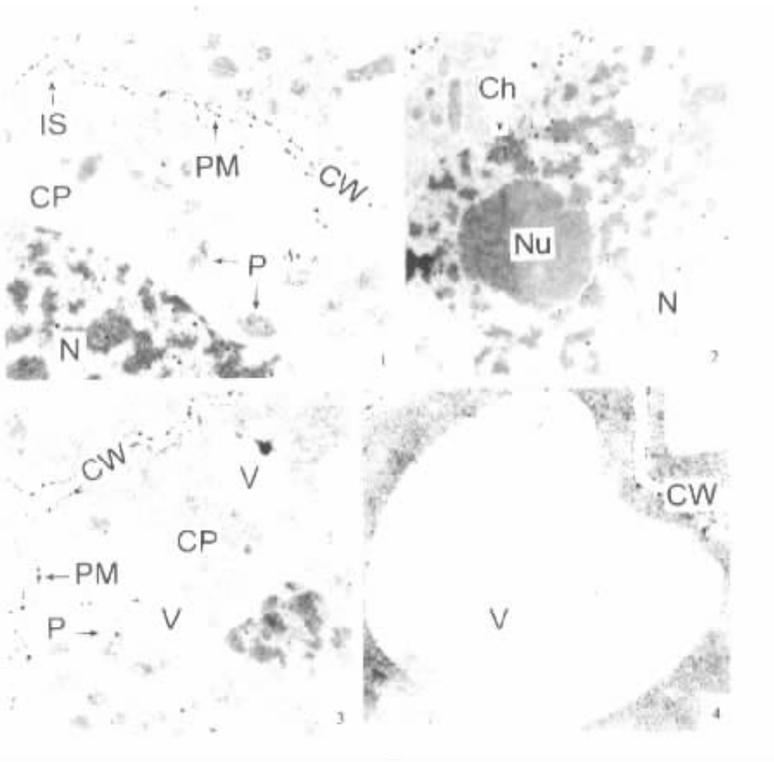


图 2 经 Al^{3+} 胁迫 12 h 后小麦根尖分生细胞内 Ca^{2+} 定位

Fig. 2 The localization of Ca^{2+} in the meristematic cells of wheat root growing under aluminum stress

图 2-1 示 Ca^{2+} 沉淀颗粒排列在质膜内侧,胞间隙、细胞质中局部区域仍有 Ca^{2+} 沉淀颗粒, $\times 9000$;图 2-2 示细胞核中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒, $\times 6500$;图 2-3,图 2-4. 示液泡、前质体中的 Ca^{2+} 沉淀颗粒, $\times 9000$; 缩写符号同图 1

Fig. 2-1 The calcium antimonate precipitates arranged in the inner side of plasmalemma. There still were antimonate precipitates in intercellular space and some areas of cytoplasm. $\times 9000$;

Fig. 2-2 Showing the antimonate precipitates in nucleus. $\times 6500$;

Fig. 2-3, Fig. 2-4 Showing the antimonate precipitates in vacuoles and proplastid, $\times 9000$. The abbreviations are the same as Fig. 1

Ca^{2+} 过多,有些部位(如液泡中)又缺 Ca^{2+} ,破坏了细胞中的 Ca^{2+} 稳态,这势必造成细胞生理功能的紊乱,从而影响到根尖的生长,并最终影响到小麦的产量。已有研究者尝试用 Ca^{2+} 来缓解 Al^{3+} 的毒害作用^[7,15],发现当土壤中加入 Ca^{2+} 后, Al^{3+} 含量显著下降,而植物根的生长得到明显改善,表明 Ca^{2+} 对铝毒有拮抗作用,但仍表现出铝毒症状,说明 Ca^{2+} 虽可缓解铝毒,但不能完全消除铝的毒害。这一试验结果对于改良土壤,充分利用我国广阔的红黄壤资源有重要参考价值,而外源 Ca^{2+} 如何与 Al^{3+} 相互作用,改善细胞对 Ca^{2+} 吸收状况的细胞学机制还有待进一步探讨。

参考文献

[1] Delhaize E, Ryan P R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.*, 1995, **107**:315~321.
 [2] 孟赐福,傅庆林,水建国. 土壤酸度对大豆、油菜生长和产量的影响. *中国农业科学*, 1994, **27**:63~70.
 [3] Scott P L, Taylor G J. The influence of aluminum on growth, carbohydrate, and organic acid content of an aluminum-tolerant and an aluminum-sensitive cultivar of wheat. *Can J Bot.*, 1991, **69**:711~716.

- [4] 彭嘉桂, 陈成榕, 卢和顶, 等. 铝对不同耐性作物品种形态和生理特性的影响. *生态学报*, 1995, **15**:104~107.
- [5] 王兴祥, 张桃林, 张斌. 红壤旱坡地农田生态系统养分循环和平衡. *生态学报*, 1999, **19**:335~341.
- [6] Ryan P R, Thomas B, Kochian L V. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J Exp Bot.*, 1993, **44**:437~446.
- [7] Foy C D, Chaney R L, White M C. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann Rev Plant Physiol.*, 1978, **29**:511~566.
- [8] Huang J W, Grunes D L, Kochian L V. Aluminum effects on the kinetics of calcium uptake into cells of the wheat root apex. *Planta*, 1992, **188**:414~421.
- [9] Jones D L, Shaff J S, Gilroy S. Aluminum induces a decrease in cytosolic calcium concentration in BY-2 tobacco cell cultures. *Plant Physiol.*, 1998, **116**:81~89.
- [10] Wick S M, Hepler P K. Selective localization of intracellular Ca^{2+} with potassium antimonate. *J Histochem Cytochem.*, 1982, **30**:1190~1204.
- [11] 王红, 简令成, 张举仁. 低温胁迫下水稻幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平的变化. *植物学报*, 1995, **36**:587~591.
- [12] Bush D S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 1995, **46**:95~122.
- [13] 杨弘远. 钙在有花植物受精过程中的作用. *植物学报*, 1999, **41**:1027~1035.
- [14] Ryan P R, Kinraide T B, Kochian L V. Al^{3+} - Ca^{2+} interactions in aluminum rhizotoxicity. I. Inhibition of root growth is not caused by reduction of calcium uptake. *Planta*, 1994, **192**:98~103.
- [15] 高吉喜, 曹洪法, 舒俭民. 土壤中铝对马尾松影响的试验研究. *林业科学*, 1991, **27**:649~651.

欢迎订阅 2002 年《水产学报》

《水产学报》是中国水产学会主办的水产科学技术的学术性刊物。于 1964 年创刊。主要刊载渔业资源、水产养殖和增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器以及水产基础研究的论文、简报和综述。并酌登学术动态和重要书刊的评介。

本刊为双月刊, 大 16 开, 国内外公开发售。每期单价: 15.00 元。国内统一刊号: CN31-1283/S; 国际标准刊号: ISSN 1000-0615。国外发行代号: Q-387, 国内邮发代号: 4-297。读者可在当地邮局订阅, 也可直接汇款至编辑部订阅。请保存订刊收据, 本刊将向订户优惠提供《水产学报》创刊至 2001 年的全文检索光盘。

编辑部地址: 上海市军工路 334 号, 上海水产大学 48 信箱, 邮编: 200090。

联系电话: (021)65710232, 传真: (021)65680965。

E-mail: scxuebao@online.sh.cn。

欢迎订阅 2002 年《上海水产大学学报》

《上海水产大学学报》是上海水产大学主办的以水产科学技术为主的综合性学术刊物。主要反映各学科科研成果, 促进学术与教学研究的交流与繁荣。主要刊载渔业资源、水产养殖和增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器、渔业经济与技术管理以及水产基础研究等方面的论文、调查报告、研究简报、综述与评述、简讯等, 并酌登学术动态和重要书刊的评介等。

本刊为季刊, 大 16 开, 国内外公开发售。每期单价: 6.00 元。国际标准刊号: ISSN 1004-7271, 国内统一刊号: CN31-1613/S。国内邮发代号: 4-604, 国际发行代号: 4822Q。读者可在当地邮局订阅, 也可直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址: 上海市军工路 334 号, 上海水产大学 38 信箱, 邮编: 200090。

联系电话: (021)65710892, 传真: (021)65680965。

E-mail: xuebao@shfu.edu.cn

万方数据