

# 低温冻害对玉米种子盾片超微结构的影响

郑 琪<sup>1</sup>, 王 威<sup>2</sup>

(1. 甘肃省平凉市农业科学研究所, 甘肃 平凉 744000, 2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 以玉米杂交种郑单958成熟鲜果穗为材料, 研究低温冻害对玉米种子盾片超微结构的影响。结果表明: -10℃处理8 h, 玉米种子盾片细胞壁、细胞膜、线粒体和蛋白质体都受到不同程度的破坏, 一些细胞局部发生轻微的质壁分离, 线粒体内部结构紊乱, 脊模糊难辨; 蛋白质体膨胀液泡化。-20℃处理8 h, 玉米种子盾片细胞发生严重的质壁分离, 原生质膜受到破坏, 丧失渗透调节功能, 部分细胞液从细胞质中外渗, 充斥在细胞膜和细胞壁之间; 脂类小滴消失殆尽; 核膜破坏、解体, 核仁高度凝聚; 线粒体膜破坏, 脊的数量减少, 甚至整个线粒体破损解体; 由于各种生物膜的破坏, 使细胞内充满许多囊状小泡, 严重时细胞壁断裂, 细胞器残体充斥在细胞间隙中。

**关键词:** 低温冻害; 玉米杂交种种子; 盾片; 超微结构

**中图分类号:** S513 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)02-0012-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2015.02.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2015.02.005)

## The Effect of Freezing Injury on Ultrastructure of Scutellum in Corn Seed

ZHENG Qi<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>

(1. Pingliang Institution of Agricultural Science, Pingliang Gansu 744000, China; 2. College of Agriculture, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** The effect of freezing injury on ultrastructure of scutellum in corn (*Zea mays* L.) seed is researched. The result shows that the normal structure of scutellum in corn seed is destroyed after the treatment of freezing injury. In the treatment of -10℃ with 8 hours, the cell wall, plasma membrane, mitochondrion and protein bodies are injured in different degrees, some cells arose plasmolysis partially, the inside structure of mitochondrion become disordered and the crests are bushtailed and difficult to distinguish; Protein bodies are expanded and figured as a vacuole. In the treatment of -20℃ with 8 hours, ultrastructure of the plasma membrane, mitochondrion, protein bodies and all kinds of cellular organs are damaged badly. A lot of cells arose plasmolysis obviously, plasma membrane is destroyed and its function of diosmosis adjusting is lost, a part of cellular liquid osmoses from cytoplasm and cellular cellular liquid osmoses from cytoplasm and filled in the space between cell wall and plasma membrane; Lipoids almost vanished; The nuclear membranes are destroyed and disintegrated, nucleolus are highly condensed; The membrane of mitochondrion is destroyed, the quantity of crests in mitochondrion decreased, even wholly mitochondrion is disjointed; Because a series of bio-membrane system is destroyed, the cells are full of vesicles, even cell wall ruptured and the organ remains osmoses to intercellular space.

**Key words:** Freezing injure; Corn seed; Scutellum; Ultrastructure

玉米是典型的喜温植物, 对冻害的抵抗能力较弱。近年来我国北方地区秋冬季频繁遭受雨雪霜冻, 低温冻害使制种玉米损失巨大<sup>[1-2]</sup>, 严重制约了玉米制种业的发展。玉米种子盾片着生于胚

轴的旁侧, 其远离胚轴的一面紧靠胚乳, 盾片上皮细胞与胚乳细胞毗邻。在玉米种子萌发过程中, 盾片除将自身贮藏的营养物质供给胚和其他生长部分外, 更重要的作用是消化、吸收胚乳中的养

收稿日期: 2014-11-07

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(1308RJYL069)部分内容

作者简介: 郑 琪 (1983—), 男, 甘肃镇原人, 农艺师, 硕士, 主要从事小麦和玉米育种研究工作。联系电话: (0)18293361852。E-mail: plnkszq@163.com

### 参考文献:

- [1] 孙海涛, 郭 激, 杜灵福. 陇东旱塬冬小麦模式化栽培技术研究[J]. 甘肃农业科技, 2007(8): 7-11.
- [2] 曹秀霞, 安维太, 李海秋. 水地胡麻密肥高产栽培模型研究[J]. 甘肃农业科技, 2010(1): 7-11.
- [3] 刘 福. 电子计算机在农业上的应用[M]. 北京: 农

村读物出版社, 1985: 114-134.

- [4] 童成立, 贺喜全, 盛良学. 农业试验中正交旋转回归设计分析模型[J]. 计算机与农业, 2000(10): 16-20.
- [5] 王一鸣. 渭源县北部旱地春小麦高产栽培优化方案研究[J]. 甘肃农业科技, 2001(1): 24-25.

(本文责编: 杨 杰)

分, 转运给正在生长的胚<sup>[3]</sup>。另外, 根据玉米种子中盾片和胚的着生位置可推断, 盾片对胚直接起保护作用, 因此, 研究低温冻害对盾片的影响对防止玉米种子冻害有重要意义。前人对在盐胁迫、渗透胁迫、水淹和空间飞行等处理下, 玉米种子胚乳传递细胞、淀粉粒、糊粉层、叶肉细胞和胚根细胞的超微结构做过详细研究<sup>[4-10]</sup>。高荣岐等研究了玉米盾片发育过程中超微结构的变化<sup>[11]</sup>, 冯波等观察了玉米种苗转化过程中盾片的超微结构<sup>[3]</sup>, 王仲等对甜玉米糊粉层及盾片影响种子活力的超微结构做了相关研究<sup>[12]</sup>, 但对低温冻害下玉米种子盾片超微结构的变化研究尚未见报道。我们旨在探讨低温冻害对玉米种子盾片细胞超微结构的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

选用玉米杂交种郑单 958 的成熟新鲜果穗

(去苞叶)。

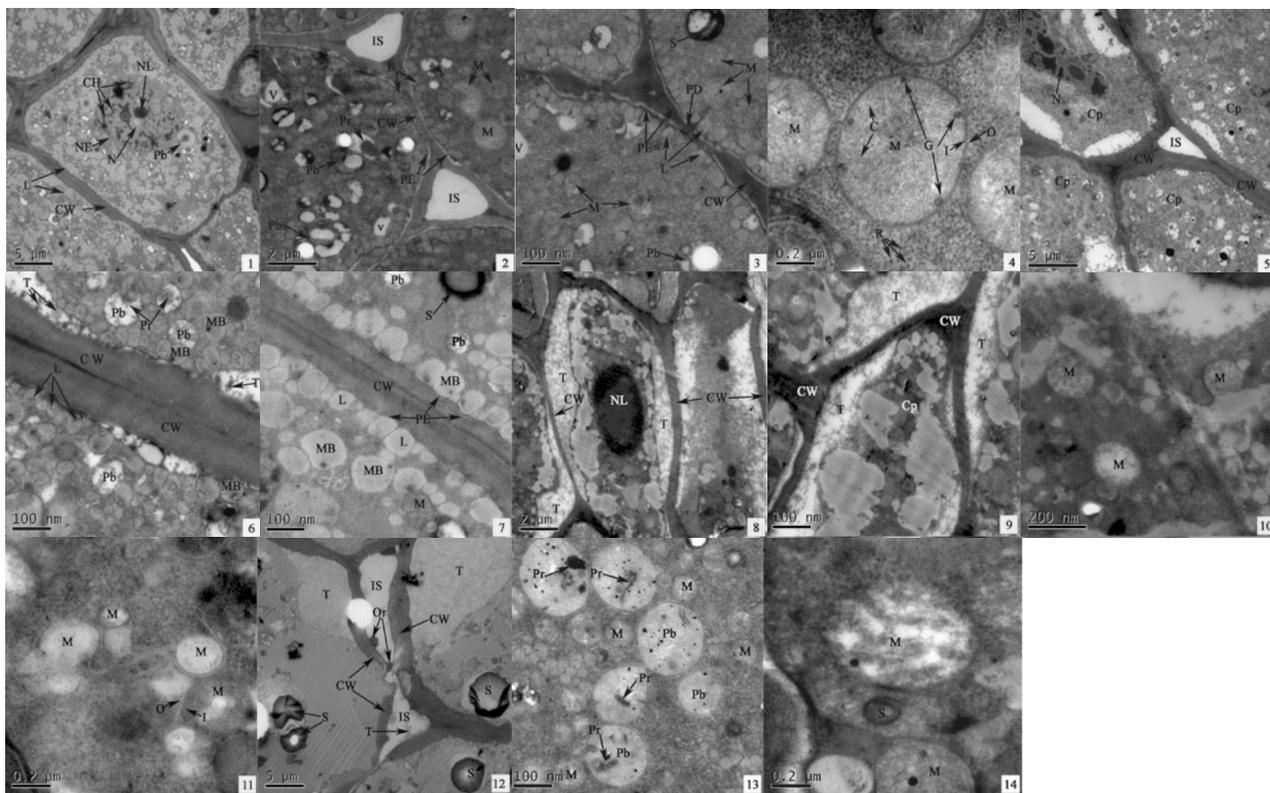
### 1.2 试验方法

将郑单 958 新鲜果穗去苞叶后 (含水量为 25%~30%), 用自封袋密封, 分别在 -10 ℃ 和 -20 ℃ 下处理 8 h (温度用 BCD-258WBCSTX 型海尔冰箱控制), 以常温处理为对照。取不同温度处理后的玉米果穗脱粒, 用单面刀片将籽粒的胚从胚乳上切下, 用 2.5% 戊二醛溶液前固定, 用磷酸缓冲液冲洗, 再以 1% 锇酸溶液后固定, 用不同梯度乙醇逐级脱水, 进行环氧丙烷置换, Epon-812 (环氧树脂) 渗透包埋, LKB 型超薄切片机切片, 醋酸铀—柠檬酸铅双重染色, 在透射电子显微镜 (JEM-1230EX 型) 下观察照相。

## 2 结果与分析

### 2.1 常温处理下的玉米种子盾片超微结构

常温下, 玉米种子盾片细胞结构完整 (图



1. 未经低温处理的盾片细胞结构 (×4000)。
2. 未经低温处理的液泡、细胞质膜和细胞间隙 (×12000)。
3. 未经低温处理的细胞壁、细胞质膜和线粒体结构 (×20000)。
4. 未经低温处理的线粒体结构 (×80000)。
5. -10 ℃ 处理 8 h 的细胞结构 (×5000)。
6. -10 ℃ 处理 8 h 的细胞壁、细胞质膜和蛋白质体 (×20000)。
7. -10 ℃ 处理 8 h 的细胞壁、细胞质膜 (×20000)。
8. -20 ℃ 处理 8 h 的细胞结构 (×10000)。
9. -20 ℃ 处理 8 h 的细胞壁和细胞质 (×20000)。
10. -20 ℃ 处理 8 h 的线粒体结构 (×30000)。
11. -20 ℃ 处理 8 h 的线粒体及其膜结构 (×80000)。
12. -20 ℃ 处理 8 h 的细胞壁以及细胞间隙中的细胞器残体 (×4000)。
13. -10 ℃ 处理 8 h 的蛋白质体 (×20000)。
14. -20 ℃ 处理 8 h 的线粒体 (×80000)。

图中: CW—细胞壁, C—线粒体脊, Cp—细胞质, CH—染色体, G—线粒体颗粒, I—线粒体内膜, IS—细胞间隙, L—脂类小滴, M—线粒体, MB—微体, N—细胞核, NL—核仁, NE—核膜, O—线粒体外膜, Or—细胞器残体, PE—细胞膜, Pb—蛋白质体, Pr—蛋白质, PD—胞间连丝, S—淀粉粒, T—渗出物, V—液泡)。

图 1 低温冻害对玉米种子盾片超微结构的影响

1-1), 细胞质膜紧贴细胞壁, 脂类小滴整齐有序地排列在细胞质膜上或者蛋白质体周围 (图 1-2、1-3), 细胞核明显可见, 核膜清晰, 内部染色质分布均匀 (图 1-1)。线粒体呈比较规则的球形或椭圆形, 分布在细胞质基质中, 双层被膜结构完整, 内膜形成的脊清晰可见, 蛋白质体和胞间连丝结构清晰可辨 (图 1-3、1-4)。

## 2.2 低温处理对玉米种子盾片超微结构的影响

2.2.1 -10℃处理对玉米种子盾片超微结构的影响  
在 -10℃低温下处理 8 h, 对玉米种子盾片细胞细胞壁和细胞核的结构影响不明显, 但会造成细胞质膜局部降解。-10℃低温处理 8 h 后, 细胞局部发生轻微质壁分离, 细胞膜渗透调节功能失衡, 部分细胞液从细胞质中外渗充斥在细胞膜和细胞壁之间 (图 1-5、1-6)。由于细胞质膜局部降解, 排列在细胞质膜上的脂类小滴排列已经不是很规则, 数量也有所减少; 线粒体内部的脊结构模糊不清 (图 1-7), 部分蛋白质体中的蛋白质降解, 体积膨胀, 形状类似液泡其中有少数絮状蛋白质 (图 1-13), 可能是低温冻害引起蛋白质降解所致。在 -10℃低温下, 玉米种子盾片细胞中无淀粉粒。

### 2.2.2 -20℃处理对玉米种子盾片超微结构的影响

-20℃低温处理 8 h 后, 玉米种子盾片细胞发生严重的质壁分离, 细胞壁比较薄弱的部位会破裂, 细胞质膜完全破坏, 丧失渗透调节功能, 大量细胞液从细胞质中外渗, 充斥在细胞膜和细胞壁之间 (图 1-8、1-9、1-12)。脂类小滴消失殆尽, 各种细胞器被膜破坏, 不可辨认, 破损的细胞器和生物膜片段充斥在细胞质中 (图 1-9、1-10、1-11)。部分蛋白质体解体消失, 核膜破坏、解体, 核中的染色质及核仁高度凝聚 (图 1-8)。线粒体膨胀, 双层膜结构破坏, 脊的数量减少, 结构模糊不清 (图 1-14), 甚至整个线粒体破损解体。细胞核核膜消失, 核仁高度凝聚, 染色体混入破损的细胞器中难以辨认 (图 1-10、1-11)。由于各种生物膜被破坏, 使细胞内充满许多囊状小泡、多泡体或斑层小体 (图 1-9), 严重时发生细胞壁破裂, 部分细胞器残体和细胞液渗透到细胞间隙中 (图 1-12)。-20℃低温下玉米种子盾片细胞中有很多淀粉粒。

## 3 小结与讨论

1) 试验结果表明, 与常温下玉米种子盾片细胞相

比较, -10℃低温处理 8 h 对玉米种子盾片细胞细胞壁和细胞核的结构影响不明显, 但会造成玉米盾片细胞质膜局部降解。在 -10℃处理后, 细胞局部发生轻微质壁分离, 细胞膜渗透调节功能失衡, 部分细胞液从细胞质中外渗充斥在细胞膜和细胞壁之间, 排列在细胞质膜上的脂类小滴排列不规则, 数量也有所减少, 线粒体内部的脊结构模糊不清, 部分蛋白质体中的蛋白质降解, 体积膨胀, 形状类似液泡, 其中有少数絮状蛋白质, 无淀粉粒。-20℃低温处理 8 h 后, 玉米种子盾片细胞发生严重的质壁分离, 细胞壁比较薄弱的部位会破裂, 细胞质膜完全破坏, 丧失渗透调节功能, 大量细胞液从细胞质中外渗, 充斥在细胞膜和细胞壁之间, 脂类小滴消失殆尽, 各种细胞器被膜破坏, 破损的细胞器和生物膜片段充斥在细胞质中, 部分蛋白质体解体消失。核膜破坏、解体, 核中的染色质及核仁高度凝聚, 线粒体膨胀, 双层膜结构破坏, 脊的数量减少, 结构模糊不清, 甚至整个线粒体破损解体。细胞核核膜消失, 核仁高度凝聚, 染色体混入破损的细胞器中难以辨认。由于各种生物膜的破坏, 使细胞内充满许多囊状小泡、多泡体或斑层小体, 细胞中有很多淀粉粒。

2) 低温冻害是指零摄氏度以下的低温对植物造成的伤害, 主要是由植物体结冰所引起的<sup>[13]</sup>。Mindy DeVries 等研究认为, 植物低温冻害是由低温形成的冰晶对细胞造成伤害<sup>[14-15]</sup>。胞间结冰引起植物原生质严重脱水, 使蛋白质变性或原生质发生不可逆的凝胶化; 冰晶体的机械压力还会对细胞造成机械损伤, 破坏原生质; 胞内结冰则对质膜、细胞器以及整个细胞产生破坏作用, 给植物带来致命损伤。细胞壁的主要成分是果胶和纤维, 比较坚韧, -10℃低温处理 8 h 后对其影响不明显, -20℃低温处理 8 h 后细胞壁比较薄弱的部位会破裂。细胞质膜由膜脂和蛋白质构成, 其构象的变化是冻害的原初反应<sup>[16]</sup>。低温冻害对细胞质膜的影响比较明显, -10℃低温处理 8 h 就会造成玉米盾片细胞质膜局部降解, 丧失渗透调节功能。-20℃低温处理 8 h 后细胞质膜完全破坏。低温冻害容易造成盾片细胞质壁分离, 温度越低, 质壁分离越明显, 可能是由于低温冻害引起细胞内部脂质和蛋白质降解, 细胞膜

破坏,原生质体中的细胞液外渗,从而导致细胞质壁分离。低温冻害引起的细胞质壁分离能否在适宜的条件下恢复有待进一步研究。正常的玉米种子盾片细胞核明显可见,细胞核核膜清晰,内部的染色质均匀分布。 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 对细胞核的结构影响不明显, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 则细胞核核膜消失,核仁高度凝聚,染色体混入破损的细胞器中难以辨认。线粒体是细胞的“动力工厂”,为细胞的各种代谢活动提供能量。正常的线粒体有内外双层膜,内膜向内突出形成许多脊。 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 后线粒体脊结构模糊难辨, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 后线粒体体积膨胀,脊的数量减少,双膜结构破坏,冻害严重的线粒体解体。该结果与郑世英等人研究盐胁迫对玉米叶肉细胞中线粒体造成的伤害特征一致<sup>[6]</sup>。冯波等观察玉米种苗转化过程中盾片的超微结构时发现,在种子萌发过程中,随着蛋白质的解体,蛋白质必定逐渐液泡化<sup>[3]</sup>。我们研究也发现 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 后会出现液泡化的蛋白质体,且蛋白质体体积膨大,其中有少数絮状蛋白质,其形状类似液泡,这可能是由于低温冻害引起蛋白质降解所致。正常的盾片细胞中,脂类小滴呈圆球形或椭球形整齐有序的排列在细胞质膜上或者蛋白质体周围。 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 后脂类小滴排列已经不是很规则,数量也有所减少。 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 8 h 后脂类小滴消失殆尽。可见低温处理会引起脂类小滴破坏或降解。冯波等在电镜下未发现玉米干种子盾片细胞中有淀粉粒的存在,他们研究认为,在种子萌发至第 8 d 时,含有原片层的质体产生淀粉粒,在萌发 12 d 的盾片上皮细胞和内部细胞中都没有发现质体中有淀粉粒,说明已被降解了<sup>[3]</sup>。这一结果与高荣岐等的研究结果不同,高荣岐等研究认为,成熟籽粒盾片中,上皮细胞有少数淀粉粒,盾片内部薄壁细胞淀粉粒较多<sup>[11]</sup>。我们研究发现, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理的样品中有很多淀粉粒,且该视野中的细胞壁比较薄,低温冻害下发生破裂,这一结果与高荣岐等人的研究结果相吻合,即取样部位不同造成观察结果不同。

#### 参考文献:

[1] 郑琪,王威,任根深,等.低温冻害对玉米种子果皮及其超微结构的影响[J].甘肃农业科技,2012

(9): 6-8.

- [2] 赵仰徽,郑琪.低温冻害对不同含水量玉米种子生长发育的影响[J].甘肃农业科技,2014(9): 16-21.
- [3] 冯波,董树亭,高荣岐,等. Ultrastructure of maize scutellum during seed-seedling transformation[J]. 作物学报,2005, 31(2): 234-237.
- [4] 魏和平,利容千,王建波. Ultrastructural changes in leaf cells of submerged maize [J]. 植物学报,2000, 42(8): 811-817.
- [5] 马媛媛,刘子会,郭秀林,等. The changes of  $\text{Ca}^{2+}$  localization in cells and cytological electromicroscopic structure of *Zea mays* L. leaflets under osmotic stress[J]. 河北农业大学学报,2007, 30(5): 1-3.
- [6] 郑世英,商学芳,王丽燕,等. Effect of salt stress on the ultra structure of cells membrane system in maize[J]. 植物研究,2009, 29(3): 299-302.
- [7] 李社荣,刘雅楠,刘敏,等. The researches of ultra-structure aberrance of maize with the treatment of space fly[J]. 中国空间科学技术,1998(6): 63-67.
- [8] 张海艳. Amyloplast development and proliferation in maize starch endosperm cell[J]. 玉米科学,2009, 17(4): 58-60.
- [9] 郑彦坤,王慧慧,顾蕴洁,等. Structure observation and investigation of maize endosperm transfer cells [J]. 西北植物学报,2009, 29(12): 2464-2467.
- [10] 盛玉萍,黄其椿,吴子恺,等. Studies on micro-structure of aleurone cell in micro-endosperm maize [J]. 广西植物,2008, 28(2): 179-182.
- [11] 高荣岐,董树亭,胡昌浩,等. Ultrastructure changes during scutellar development in maize(*Zea mays* L.) [J]. 作物学报,1997, 23(2): 232-238.
- [12] 王仲,许文娟,谭晓丽. Study of ultrastructure on effect of sweet corn aleurone layer and scutellum on seed vigor[J]. 中国农学通报,2007, 23(7): 168-170.
- [13] 王沙生,高荣孚,吴贯明. 植物生理学(第2版)[M]. 北京:中国林业出版社,1991: 371-375.
- [14] MAZUR, FULLER. Life in the frozen state. Principles of cryobiology[M]. CRC Press: Boca Raton, FL, P.L. 2004: 65.
- [15] MINDY DE VRIES, A Susana Goggi, Kenneth J Moore, et al. Determining seed performance of frost-damaged maize seed lots[J]. Crop Sci, 2007(47): 2089-2097.
- [16] LYONS J M. Chilling injury in plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973(24): 445-466.

(本文责编:郑立龙)