

龙眼叶片冻害症状及细胞超微结构变化

朱建华¹, 黄江流¹, 罗木林², 李桂芬¹, 彭宏祥¹

(1. 广西农业科学院园艺研究所, 南宁 530007; 2. 石龙园艺场, 广西 象州 545801)

摘要: 以石硤龙眼为试材, 于霜冻期间取叶片作超薄切片电镜透射观察, 同时对叶片冻害症状进行观察, 结果表明: 龙眼叶片结霜时细胞结构尚未受到明显破坏, 叶片外部亦未表现出明显的冻害症状。在霜晶快速溶化后细胞结构受破坏, 出现质壁分离、细胞膜破裂等现象, 从而导致细胞液大量外流, 叶片出现褐色或黑褐色冻斑。随着阳光照射和气温继续升高, 受冻害的叶片进一步失水, 导致细胞壁破裂, 细胞质、细胞器等原生质裂解、互溶, 使细胞结构发生不可逆转的变化, 致使细胞死亡。

关键词: 龙眼; 叶片; 霜冻; 超微结构

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)05-0589-03

Frosted symptom and ultrastructural changes of longan leaf

ZHU Jian-Hua¹, HUANG Jiang-Liu¹, LUO Mu-Lin²,
LI Gui-Fen¹, PENG Hong-Xiang¹

(1. Institute of Horticulture, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 2. Shilong Farm, Xiangzhou 545801, China)

Abstract: The frosted leaf ultrastructures of longan named 'Shixia' were detected under electron microscope and the freezing injury symptoms were observed. The results indicated that there were not obvious damages in cellular structure when leaves were frosted, and the freezing injury symptoms of outer part of leaves were not obvious. But the ultrastructures were damaged when frost crystal dissolved fleetly, such as plasmolysis, membranolysis and cytoplasm flowing out, which caused the phenomenon of brown or black-brown frost spots. With the sunlight exposure and the increase of air temperature, the frosted leaves dehydrated further, cell wall ruptured, and cytoplasm cleared or dissolved, which led to the reversibly changes of cellular structure, then the cell died.

Key words: longan; leaf; frost; ultrastructure

龙眼(*Dimocarpus longan*)为我国南方的一种名特优水果, 主产于福建、广东、广西、台湾等省(区)(林河通等, 2002)。在华南地区种植常受低温霜冻危害(覃国清等, 2000; 朱建华等, 2000)。当冻害发生时, 龙眼叶片首先受害, 并随冻害程度不同而表现不同症状(朱建华等, 2000, 2006)。叶片是龙眼植株的主要营养器官, 叶片受害是导致树体衰弱甚至死亡的重要原因, 冻害发生后应采取的措施尽量延长尚

有光合机能叶片的挂树时间(覃国清等, 2000; 朱建华等, 2006)。因此, 对龙眼叶片冻害症状及与细胞超微结构变化关系开展研究, 可为制订龙眼冻害叶片的护理技术提供一定的理论依据。已有的报道多为对龙眼叶片冻害症状进行观察描述(朱建华等, 2000, 2006; 李剑书等, 1999), 陈国林等(1998)研究了龙眼越冬期叶片细胞亚显微结构的变化, 但未见有霜冻过程中龙眼叶片冻害症状与细胞超微结构变

收稿日期: 2007-07-24 修回日期: 2007-12-26

基金项目: 广西科学基金(0448024); 广西大型仪器协作共用网项目[Supported by the Science Foundation of Guangxi(0448024); the Instrument Shared System of Guangxi]

作者简介: 朱建华(1962-), 男, 广西博白人, 副研究员, 从事果树种质资源和栽培技术研究, (E-mail)y66899@126.com。

化相关联的研究报道,为此我们开展了本研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验果园为广西龙眼栽培的北缘地带象州县石龙园艺场,品种为石硖,1994年春种植。于2006年1月9~10日霜冻发生期间在果园中距地面200 cm高处设置温度计,从1月9日21:00起至10日9:00止,每隔20 min记录一次温度变化情况,同时观察龙眼叶片结霜情况,并分别于1月10日7:30霜晶尚未溶解时、9:30霜晶溶解后叶片开始出现冻斑时以及11日9:30分别采末次梢顶部往下第3复叶的中部小叶,并于1月10日在广西南宁市广西农科院园艺研究所龙眼园采不受霜冻危害、相同树龄的石硖龙眼末次梢顶部往下第3复叶的中部小叶作对照。

1.2 观察方 法

从叶片中部主脉旁切取0.5 mm×0.5 mm的叶片组织经3%戊二醛前固定,1%锇酸后固定,酒精、丙酮梯度脱水,环氧树脂618包埋,瑞典LKB-V型超薄切片机切片,切片厚度约70 nm,日本日立H-500型透射电子显微镜观察拍照。同时自霜冻发生至2006年6月对龙眼冻害叶片症状进行观察。

2 结果与分 析

2.1 龙眼叶片的冻害症状

2006年1月10日2:00果园温度下降至-0.2℃时叶片开始结霜,至7:20果园温度下降至最低点,达-2.0℃;8:15温度上升到0.5℃时霜晶开始溶解,至8:30温度上升至1.7℃时霜晶全部溶解。据观察,在结霜以及霜晶尚未溶解时龙眼成熟叶片的颜色及外部形态未出现明显变化,随着霜晶的迅速溶解,叶片逐渐出现冻害症状,最初在叶片主脉和侧脉周围出现褐色或黑褐色冻斑,冻害程度轻的叶片其叶脉逐渐变为褐色或黑褐色,冻斑密集分布于主脉和侧脉周围,而侧脉间的大部分叶片组织仍保持绿色,这部分叶片逐渐产生离层而脱落,其挂树时间长短不一,有的能维持到春梢萌发而不脱落。而冻害严重的叶片失水严重干枯扭曲,不能产生离层而枯于枝上经久不落。

2.2 龙眼冻害叶片的细胞超微结构变化

据电镜观察,未受霜冻危害的龙眼成熟叶片细

胞超微结构正常,细胞壁完整,叶绿体呈梭形,叶绿体基粒片层排列规则有序,线粒体呈不规则的球形(图版I:1)。在结霜以及霜晶尚未溶解时未观察到叶片细胞结构受到严重破坏(图版I:2)。随着霜晶溶解后,细胞结构受到较严重损伤,首先出现叶绿体膜消失,叶绿体片层系统受破坏,细胞质膜破裂和质壁分离(图版I:3)。随着时间的推移细胞结构的破坏程度加重,霜冻后第2天取材进行超薄切片观察,可见细胞质膜和细胞壁破裂,细胞器与细胞质互溶成为形状、大小不规则的团块和颗粒状物(图版I:4,5),细胞结构已完全破坏。

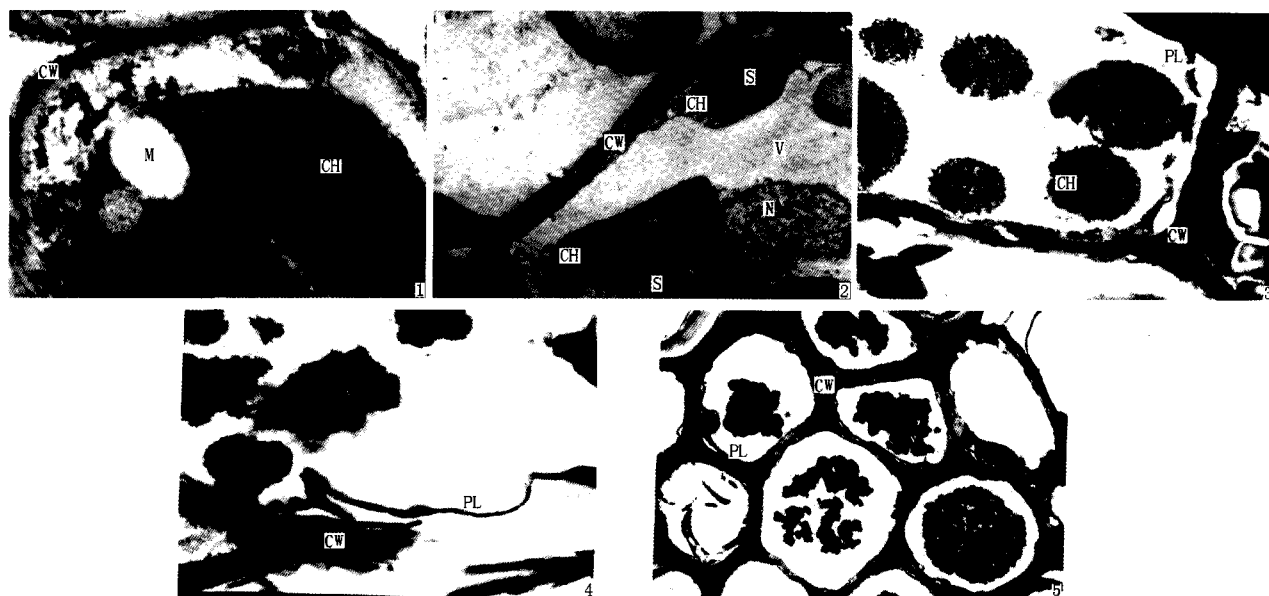
3 讨 论

上述研究表明,龙眼叶片冻害症状的外部表现基于细胞超微结构的变化。廖勇为(1987)指出,在结冰初期植物的组织并未遭受破坏。我们的观察也表明叶片结霜而霜晶未溶解时细胞结构尚未受到严重破坏,细胞液未大量外流,因此在叶片外部亦未表现出明显的冻害症状。

霜冻期间往往天气晴朗,昼夜温差大,早上太阳升空后气温上升快,导致霜晶快速溶化,是导致龙眼叶片细胞结构遭受破坏的主要原因。关于霜晶快速溶化对细胞结构的破坏作用,已有的研究认为是细胞壁和原生质的机械拉力以及原生质的失水不能得到恢复而产生(刘祖祺,1990)。霜晶快速溶化后首先观察到细胞膜破裂和叶绿体片层系统受破坏的现象,表明质膜和叶绿体是最易受低温伤害的细胞器,与简令成(1983)和Kimball & Salisoury(1973)的研究结果一致。

霜晶快速溶化后细胞出现了细胞膜和细胞壁破裂等现象,导致细胞液外流氧化,是冻害叶片出现褐色或黑褐色冻斑的原因。霜冻后第2天细胞结构进一步受破坏而使细胞质裂解为团块和颗粒状物。Weiser(1970)研究皮层细胞冻害死亡的过程时指出,细胞原生质呈颗粒状即进入死亡。可见霜冻使龙眼叶片细胞结构发生不可逆的变化而死亡。

根据以上研究结果,生产上所采取的防霜冻措施除了要减少霜冻夜晚温度下降幅度之外,还要减缓白天温度上升的速度,以减缓霜晶溶解的速度,从而减轻叶片的伤害程度。实践证明,采用遮阳网或稻草等秸秆物进行树冠覆盖可有效减缓霜冻夜晚的降温幅度和白天的升温速度,从而减轻霜冻危害。



图版 I 1. 不受霜冻危害的叶片, 细胞超微结构正常 $\times 12\ 000$; 2. 叶片结霜时, 细胞超微结构正常 $\times 3\ 800$; 3. 霜晶溶解后叶片开始出现冻斑时, 细胞膜破裂和质壁分离, 叶绿体片层系统受破坏 $\times 4\ 800$; 4. 霜冻后第 2 天, 细胞膜和细胞壁破裂, 原生质呈颗粒状 $\times 5\ 900$; 5. 霜冻后第 2 天, 叶片细胞内容物裂解, 原生质呈颗粒状 $\times 2\ 000$ 。CH. 叶绿体; CW. 细胞壁; PL. 质膜; M. 线粒体; V. 液泡; S. 淀粉粒; N. 细胞核。

Plate I 1. Leaf without frost, showing normal ultrastructure $\times 12\ 000$; 2. Leaf with frost, showing normal ultrastructure $\times 3\ 800$; 3. Leaf with frost after crystal dissolved and frosted spots appeared, showing membranolysis, plasmolysis, and ruptured lamellar system of chloroplast under electron microscope $\times 4\ 800$; 4. Leaf after frosted for 2 d, showing ruptured cellular membrane and cell wall, and granulo-like protoplast $\times 5\ 900$; 5. Leaf after frosted for 2 d, showing lytic cellular contents and granulo-like protoplast $\times 2\ 000$. CH. Chloroplast; CW. Cell wall; PL. Plasm-membrane; M. Mitochondrion; V. Vacuole; S. Starch grain; N. Nucleus.

据观察, 冻害发生之后龙眼叶片首先受害, 其中叶脉对低温最为敏感, 在遇到低温霜冻时首先是叶脉及其周围组织受害, 冻害轻的仅为叶脉及其周围出现褐色或黑褐色冻斑, 这类叶片会逐渐产生离层脱落, 其挂树时间长短不一, 有的可维持半年以上不脱落。因此, 生产上应采取措施尽量延长这类叶片的挂树时间。在霜冻发生之后, 对尚有绿叶层的植株应及时喷施根外追肥, 同时及时淋水以补充水分, 减少落叶。

致谢 广西大学农学院植物学教研室艾素云和广西医科大学电镜室梁莹老师对本研究给予指导和帮助, 谨表感谢。

参考文献:

- 朱建华, 彭宏祥. 2006. 广西龙眼先进栽培技术[M]. 南宁: 广西科学技术出版社: 79
 刘祖祺. 1990. 柑桔抗寒生理及其防寒技术[M]//刘祖祺, 王洪春. 植物耐寒性及其防寒技术. 北京: 学术书刊出版社: 231—249
 李剑书, 蔡明段, 邱燕萍, 等. 1999. 荔枝龙眼病虫害的识别与防治[M]. 广州: 南方日报出版社: 164—166

- 覃国清, 罗文质. 2000. 作物防冻及补救技术[M]. 南宁: 广西科学技术出版社: 17, 26
 廖勇为. 1987. 寒地果树栽培[M]. 台北: 五洲出版社: 39—40
 Chen GL(陈国林), Liu XH(刘星辉). 1998. Changes of the ultrastructure of longan leaf cell in winter(龙眼越冬期叶片细胞亚显微结构的变化)[J]. *J Fujian Agric Univ(福建农业大学学报)*, 27 Suppl. (增刊): 38—40
 Jian LC(简令成). 1983. Biomembrance in relation to cold injury and hardiness of plants(生物膜与植物寒害和抗寒性的关系)[J]. *Chin Bull Bot(植物学通报)*, 1(1): 17—23
 Kimball SL, Salisoury FB. 1973. Ultrastructural changes of plants exposed to low temperatures[J]. *Am J Bot*, 60(10): 1 028—1 033
 Lin HT(林河通), Xi YF(席玟芳), Chen SJ(陈绍军), et al. 2002. A comparative observation on pericarp morphology and structure and its relationship to storability and transport of longan fruit(龙眼果皮形态结构比较观察及其与果实耐贮运的关系)[J]. *Guihaia(广西植物)*, 22(5): 413—419
 Weiser CJ. 1970. Cold resistance and injury in woody plants[J]. *Science*, 169(3952): 1 269—1 278
 Zhu JH(朱建华), Huang SA(黄世安), Xu SB(许绍彪), et al. 2000. Discussion of some frost problems about longan(对龙眼冻害若干问题的探讨)[J]. *Guangxi Trop Crop Tech(广西热带科技)*, (4): 23—34