温度逆境交叉适应对葡萄叶片膜脂过氧化和细胞钙分布的影响

王利军¹ 李绍华¹ 李家永² 杨树华¹ 刘允芬² 石玉林²

(1 中国科学院植物研究所, 北京 100093) (2 中国科学院地理科学与资源研究所, 北京 100101)

摘 要 研究了高温锻炼对低温胁迫下和低温锻炼对高温胁迫下葡萄(*Vitis vinifera*)叶片中丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA)含量变化以及细胞中 Ca^{2+} 分布的影响。结果表明:高(低)温胁迫使正常生长的叶片丙二醛含量升高,GSH和AsA含量下降,低(高)温锻炼预处理能减少MDA含量,提高GSH和AsA含量,抑制了由于温度胁迫引起MDA含量升高和GSH和AsA下降趋势。常温下葡萄叶肉细胞的 Ca^{2+} 主要分布于液泡、细胞间隙中;高温胁迫和低温胁迫后,细胞质中聚集大量 Ca^{2+} 沉淀颗粒,液泡中和细胞间隙 Ca^{2+} 沉淀颗粒减少,叶绿体超微结构被破坏, Ca^{2+} 稳态平衡遭到破坏。高温锻炼后细胞质出现大量的 Ca^{2+} 沉淀颗粒,主要来源于细胞间隙,低温锻炼后细胞质也出现大量的 Ca^{2+} 沉淀颗粒,主要来源于液泡,两者的叶绿体超微结构都完整,高温锻炼的叶片经过低温胁迫和低温锻炼的叶片经过高温胁迫后,细胞间隙和液泡内 Ca^{2+} 沉淀颗粒增加,细胞质中 Ca^{2+} 沉淀颗粒很少,叶绿体较完整, Ca^{2+} 稳态平衡得以维持。推测高低温锻炼能够通过 Ca^{2+} 启动抗逆基因表达和维持细胞中 Ca^{2+} 稳态平衡来交叉适应低高温的胁迫。

关键词 葡萄 交叉适应 过氧化 Ca^{2+} 温度逆境

PEROXIDATION OF MEMBRANE LIPID AND CALCIUM DISTRIBUTION IN GRAPE MESOPHYLL CELLS DURING CROSS ADAPTATION TO TEMPERATURE STRESSES

WANG Li-Jun¹ LI Shao-Hua¹ LI Jia-Yong² YANG Shu-Hua¹ LIU Yun-Fen² and SHI Yu-Lin²

(1 Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

(2 Institute of Geographical Science and Natural Resource Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Changes in the membrane protective system and Ca^{2+} homeostasis in young grape (*Vitis vinifera*) plants during the enhancement of chill resistance with heat acclimation and heat resistance with cold acclimation were examined to explore the mechanism of cross adaptation to temperature stress. MDA content in heat (cold) acclimated leaves by cold (heat) stress was less than that in the non-acclimated control plants which showed that heat (cold) acclimation could alleviate the damages of cell membrane caused by cold (heat) stress. Higher leaf levels of glutathione (GSH) and ascorbate acid (AsA) also were found with pre-cold (heat) acclimation under heat (cold) stress than in the non-acclimated control plants. Cold and heat stresses have been shown to cause transient elevated levels of cytosolic free Ca^{2+} , but there is little evidence showing that Ca^{2+} homeostasis was maintained in cross adaptation, a crucial factor for confirmation of the existence of cross adaptation and the elucidation of the mechanisms of cross adaptation. Ca^{2+} -homeostasis was demonstrated by examining Ca^{2+} distribution using the cytochemical method of the calcium antimonite precipitation. The results revealed calcium was distributed mainly within the vacuole and intercellular spaces at the optimum growth temperature. When the plants were treated by either heat or cold acclimation for 3 h, calcium levels in the cytoplasm increased dramatically. Meanwhile, deposits in the vacuole concentrated in the tonoplast and deposits in the intercellular space decreased after heat acclimation whereas, after cold acclimation, the deposits in vacuole decreased significantly but did not change in the intercellular space. These results indicate that heat acclimation mostly pumped Ca^{2+} out of intercellular spaces whereas cold acclimation pumped Ca^{2+} out of vacuoles. These results revealed two physiological phenomena: on one hand, heat (cold) acclimation increased Ca^{2+} in cytoplasm to increase the integrity of membranes under cold (heat) stress; on the other hand, increased Ca^{2+} in the cytoplasm induced the expression of GSH and AsA genes increasing GSH and AsA levels.

When non-acclimated plants were stressed at 44 °C or -3 °C for 3 h, compared to control plants, more

Ca^{2+} particles were located in the inner side of the plasma membrane, fewer Ca^{2+} particles were in the intercellular spaces and vacuole, the plasma membrane and chloroplast showed signs of damage, and chloroplast ultrastructure was destroyed. However, when heat acclimated plants were exposed to chilling stress at $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 3 h and cold-acclimated plants were exposed to heat stress at $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 3 h, more Ca^{2+} particles were found in the intercellular spaces and in vacuoles and few Ca^{2+} particles were on the inner side of the plasma membrane. Cell membranes and chloroplasts were not destroyed. These results indicate that too much intracellular Ca^{2+} can be pumped off in heat-acclimated cells under cold stress or cold-acclimated cells under heat stress but cannot be pumped off in non-acclimated cells, suggesting that calcium homeostasis is very important in grape mesophyll cells during cross adaptation to temperature stress.

Key words Grape, Cross adaptation, peroxidation, Ca^{2+} , Temperature stress, Temperature acclimation

植物所处的环境既是多种多样,又是千变万化的,不同环境因子以不同的方式、时间、强度和部位施加于植物,植物作出相应不同的反应。植物的响应虽有所不同,但对不同胁迫的抗性之间却存在着密切的联系。植物在某非致死胁迫条件下,不仅可增强对该胁迫的抗性,而且还同时增强对其它胁迫的抗性,这一过程称为交叉适应(曾韶西,1997; Knight & knight 2001)。轻度低温或盐胁迫预处理能增强植物对高温的抗性(Lu & Zhang, 1998; Fu *et al.*, 1998; Balagurova *et al.*, 2001),热激(高温锻炼)能够诱导植物对高温、低温、干旱和盐胁迫的交叉适应(Gong *et al.*, 2001),低温锻炼能够诱导植物对低温、高温胁迫的抗性(Fu *et al.*, 1998; Balagurova *et al.*, 2001)。阐明植物交叉适应的机制是目前国际上研究的热点。胞质中 Ca^{2+} 浓度的改变是植物细胞感受并转导外界多种逆境刺激信号的一个中心环节,而维持细胞生理代谢和 Ca^{2+} 信使功能的正常进行就必须把受刺激升高的胞质 Ca^{2+} 浓度在其完成信息传递后迅速回落到静息态水平(由定位在质膜和细胞器外膜的 Ca^{2+} -ATPase 来执行),即维持 Ca^{2+} 稳态平衡(Ca^{2+} homeostasis)是完成 Ca^{2+} 的信使作用和细胞调节功能的主要条件(Poovaiah & Reddy, 1993)。简令成(1999)认为细胞内 Ca^{2+} 稳态平衡是低温逆境中抗寒植物和不抗寒植物命运的决定因素。曾韶西等(1999)的研究表明,冷和盐预处理诱导水稻幼苗抗寒性的提高,均与在低温胁迫下两预处理能有效地维持或激活 Ca^{2+} -ATPase 活性有关。虽然目前包括膜保护系统变化的关于植物高低温交叉适应机制有多种报告(Lu & Zhang, 1998; Gong *et al.*, 2001; Fu *et al.*, 1998),但是对 Ca^{2+} 的细胞定位变化和稳态平衡的研究尚未见到。该文通过使用 Ca^{2+} 的细胞化学定位方法,探讨 Ca^{2+} 在葡萄幼苗对高、低温逆境交叉适应中的作用,同时通过测定细胞膜过氧化产物丙二醛含量以及抗氧化剂 AsA 和 GSH

含量来阐述葡萄对高低温逆境交叉适应的机制。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为一年生‘京秀’葡萄(*Vitis vinifera* cv. Jingxiu)扦插苗,2001年12月中旬,在温室中(最高温度 $27\text{ }^{\circ}\text{C}$,最低温度 $18\text{ }^{\circ}\text{C}$)把已经通过休眠的葡萄幼苗栽植到塑料盆中。盆高 25 cm,盆底和盆口直径分别为 15 cm 和 20 cm。每盆栽种 1 株。盆栽用土为园土:草炭土 = 4:6。其它按常规管理。

1.2 试验处理

从温室中选择生长一致的葡萄幼苗(已经长有 10 片功能叶),分为两批,一批先放在光照培养箱中($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)让其正常生长,另一批置于光照培养箱中进行高温锻炼 3 h($38\text{ }^{\circ}\text{C}$),此后两批一起进行低温胁迫($-3\text{ }^{\circ}\text{C}$)处理 0、1、3、6 h;采用类似的方法,选取两批苗子,一批在先放在光照培养箱中($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)让其正常生长,另一批置于光照培养箱中进行低温锻炼 3 h($10\text{ }^{\circ}\text{C}$),此后两批一起进行高温胁迫($44\text{ }^{\circ}\text{C}$)处理 0、1、3、6 h,培养箱中光照强度都为 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$,每个处理设 3 个重复。光照培养箱的湿度都保持在 70% ~ 80%。取苗子第四片叶用于测定下列各种生理指标和进行 Ca^{2+} 的细胞化学定位。

1.3 丙二醛(MDA)、抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定

MDA 的测定参考朱广廉等(1990)的方法进行。

AsA 的测定参照 Tanaka 等(1985)的方法,稍加修改。取 0.1 g 叶片,加入 3 ml 5% 的偏磷酸溶液研磨, $14\ 000\times g$ 离心 10 min,上清液定容至 3 ml。测定时取样品液 0.2 ml,与 0.4 ml、75 mmol·L⁻¹ 的 NaH_2PO_4 溶液(pH 7.4)混匀后,再依次加入 10% 的偏磷酸 0.4 ml、44% 的磷酸 0.4 ml、4% 的 2,2-二联吡啶(溶于 70% 乙醇)0.4 ml 和 3% 的 FeCl_3 0.2 ml,摇匀,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保温 1 h,然后测定 525 nm 波长下的光

吸收值。

GSH 的测定参照 Ellman(1959)的方法 ,稍加修改。样品液提取同 AsA。取样品液 0.2 ml ,加入 150 mmol·L⁻¹的溶液 NaH₂PO₄(pH 7.7) 2.6 ml ,混合后再加入 0.2 ml 5,5-二巯基二硝基苯甲酸(DTNB)试剂(75.3 mg DTNB 溶于 30 ml、0.1 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液 ,pH 6.8) ,以加磷酸缓冲液代替 DTNB 试剂作空白 ,摇匀 ,于 30 ℃保温 5 min ,然后测定 412 nm 波长下的光吸收值。

1.4 Ca²⁺ 的细胞化学定位

参考 Tian 等(1998)的方法 ,采用焦锑酸钾沉淀法进行 Ca²⁺ 细胞化学定位。丙酮系列脱水 ,Spurr 树脂渗透、包埋。在 LKB 超薄切片机上切片 ,切片不经染色 ,然后在 JEM100CX 电镜下观察、拍照。对照 将在电镜下已确定有焦锑酸钙沉淀的定位切片铜网漂浮在 0.1 mol·L⁻¹的 EGTA 溶液(pH 7.8)中保温 2 h ,以除去切片上的钙沉淀 ,然后再置于电镜下观察、拍照。

2 结 果

2.1 高(低)温锻炼对低(高)温胁迫下叶片丙二醛含量的影响

高低温胁迫对细胞造成的伤害之一是对细胞膜结构的伤害。由膜脂过氧化作用产生的丙二醛含量可作为植物抗逆性强弱的指标之一。从图 1 可以看出 ,在测定的时间范围内 ,经过高温锻炼的葡萄叶片受到低温胁迫后其丙二醛含量明显比未经高温锻炼的低。可见高温锻炼能够减轻低温胁迫对细胞膜的破坏。从图 2 也可以看出 ,低温锻炼能够减轻高温胁迫对葡萄幼苗细胞膜结构的破坏。

2.2 高(低)温锻炼对低(高)温胁迫下叶片中 AsA 和 GSH 含量的影响

图 3 表明 ,经过高温锻炼后 ,叶片的 AsA 和 GSH 的含量都有显著的增加 ,而在经过不同时间的低温胁迫后 ,尽管有不同程度的下降 ,但仍比未经过高温锻炼的高得多。表明高温锻炼能抑制低温胁迫对 AsA 和 GSH 含量的影响。从图 4 也可以看出 ,低温锻炼也能抑制高温胁迫对葡萄幼苗 AsA 和 GSH 含量的影响。

2.3 极端温度胁迫下叶肉细胞 Ca²⁺ 稳态平衡的变化

2.3.1 极端温度胁迫对未经温度逆境锻炼的叶肉细胞中 Ca²⁺ 稳态平衡的影响

电镜观察结果表明 ,正常温度下生长的葡萄幼

图 1 高温锻炼对低温胁迫下葡萄叶片丙二醛含量的影响
Fig.1 Effect of heat acclimation on MDA content of grape leaves under cold stress (-3 ℃)
HA :高温锻炼(38 ℃ 3 h)Heat acclimation (38 ℃ for 3 h) NA :未锻炼 Non-acclimation

图 2 低温锻炼对高温胁迫下葡萄叶片丙二醛含量的影响
Fig.2 Effect of cold acclimation on MDA content of grape leaves under heat stress (44 ℃)
CA :低温锻炼(10 ℃ 3 h)Cold acclimation (10 ℃ for 3 h) NA :未锻炼 Non-acclimation

苗 ,其叶片组织切片经焦锑酸钾的细胞化学反应后 ,显示 Ca²⁺ 沉淀颗粒主要分布于液泡、细胞间隙中 ,且液泡中的密度特别大 ;叶绿体呈梭型 ,上面有淀粉粒分布 ,Ca²⁺ 沉淀颗粒较少 ,质膜 Ca²⁺ 沉淀颗粒很少(图版 I 1 2)。经过 3 h 热胁迫后 ,细胞内壁聚集大量 Ca²⁺ 沉淀颗粒 ,液泡中 Ca²⁺ 沉淀颗粒大量消失 ,叶绿体中 Ca²⁺ 沉淀颗粒增大 ,细胞间隙 Ca²⁺ 沉淀颗粒减少 ;叶绿体超微结构被破坏 ,片层结构紊乱 ,淀粉粒变形 ,质壁分离(图版 I 3)。经过 3h 低

图3 高温锻炼对低温胁迫下葡萄叶片抗坏血酸、谷胱甘肽含量的影响

Fig.3 Effect of heat acclimation on AsA and GSH contents of grape leaves under cold stress (-3 °C)
HA :高温锻炼(38 °C 3 h)Heat acclimation(38 °C for 3 h) NA :未锻炼 Non-acclimation

图4 低温锻炼对高温胁迫下葡萄叶片抗坏血酸、谷胱甘肽含量的影响

Fig.4 Effect of cold acclimation on AsA and GSH contents of grape leaves under heat stress (44 °C)
CA :低温锻炼(10 °C 3 h)Cold acclimation(10 °C for 3 h) NA :未锻炼 Non-acclimation

温胁迫后,细胞膜内侧中聚集大量 Ca^{2+} 沉淀颗粒,叶绿体中 Ca^{2+} 沉淀颗粒增大,超微结构破坏,细胞间隙 Ca^{2+} 沉淀颗粒减少(图版 I 4)。EGTA 是 Ca^{2+} 专一性螯合剂。经过 EGTA 处理过的切片,在原来形成沉淀的部位上(如叶绿体)形成与原来沉淀物形状相同的电子透明区域(图版 I 10)。前人的研究结果也证实了该实验方法的专一性(Wang *et al.* , 1994)。

2.3.2 极端温度胁迫对经过温度逆境锻炼的叶肉细胞中 Ca^{2+} 稳态平衡的影响

高温锻炼 3 h 的葡萄叶肉细胞 Ca^{2+} 沉淀分布很规则,叶绿体上 Ca^{2+} 沉淀颗粒和对照相比有增加趋势,细胞膜内侧出现较多的颗粒,液泡中 Ca^{2+} 沉淀颗粒较对照少,叶绿体超微结构完整,叶绿体基质上有淀粉粒分布,细胞间隙中极少(图版 I 5,6);经过高温锻炼的葡萄幼苗再经过低温胁迫 3 h 后,液泡膜内侧出现较大 Ca^{2+} 沉淀颗粒,细胞间隙增多,细

胞基质中减少,叶绿体仍较完整,淀粉粒还存在,分布较大的 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图版 I 7)。低温锻炼 3 h 的葡萄叶肉细胞质膜内侧出现较多的颗粒,液泡中 Ca^{2+} 沉淀颗粒很少,叶绿体超微结构完整,叶绿体上有淀粉粒分布,细胞间隙中还存在较多的 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图版 I 8)。经过低温锻炼的葡萄幼苗再经过高温胁迫 3 h 后,液泡膜内侧 Ca^{2+} 沉淀颗粒增多,细胞间隙中增多,细胞基质中减少,叶绿体仍较完整,淀粉粒还存在,分布较大的 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图版 I 9)。

3 讨论

GSH 和 AsA 是植物体内两种重要的抗氧化剂,它们参与的 AsA-GSH 循环是重要的清除活性氧的系统,而且 GSH 还能启动抗性基因的表达和保护巯基(Kocsy *et al.* , 2001)。GSH 和 AsA 含量的变化与高(低)温胁迫密切相关。试验的结果表明,经过高

(低)温锻炼的葡萄幼苗叶片 GSH 和 AsA 含量显著增加,在经过不同时间的低(高)温胁迫后,其含量高于处于相同胁迫下的对照幼苗的含量。而在不同时间的低(高)温胁迫下,经过高(低)温锻炼的葡萄幼苗叶片丙二醛含量始终比对照的低。这说明高温(低温)锻炼的确能够提高葡萄幼苗对低温(高温)胁迫的抗性。

越来越多的证据表明, Ca^{2+} 在植物对逆境的响应中起着重要的作用。一方面是由于 Ca^{2+} 能够维持膜系统的稳定性和完整性以及膜的选择通透性,另一方面是 Ca^{2+} 在细胞内具有传递外界信号的第二信使的特殊功能(Palta, 1996)。在正常生长条件下,植物细胞质中 Ca^{2+} 水平很低,液泡是高等植物细胞的主要 Ca^{2+} 库,细胞间隙也存在大量的 Ca^{2+} (Reddy, 2001)。本试验的结果证实了这一点(图版 I 1 2)。这种胞内 Ca^{2+} 浓度的区域化分布能被外界物理或化学信号改变。因此人们推测外界环境的变化,可能通过触发细胞中 Ca^{2+} 浓度和分布的变化,来诱导植物对外界环境的反应和适应(Minorsky, 1989; Poovaiah, 1993)。钙信使介导外界因子调节细胞生理活性变化的表现主要是调节胞质中 Ca^{2+} 浓度的瞬时增加来体现的(Reddy, 2001)。本试验结果也显示,葡萄幼苗经过高温锻炼和低温锻炼,胞质中 Ca^{2+} 大量增加,既有来自于细胞间隙的,也有来自于液泡的,高温锻炼以细胞间隙的为主,低温锻炼以液泡的为主(图版 I 5 6 8)。该结果可能具有两方面的生理学意义,一方面高(低)温锻炼增加了质膜的 Ca^{2+} 数量,有助于保持在以后重度低(高)温胁迫下的质膜结构完整性,图 1 和图 2 中丙二醛含量上升的较少的结果证实了该推测;另一方面,胞质中 Ca^{2+} 增加有助于诱导与 GSH 和 AsA 相关基因的表达,结果 GSH 和 AsA 含量显著增加,使细胞在以后重度温度胁迫下还能保持较高含量(图 3, 图 4)。细胞质中 Ca^{2+} 浓度的升高,可能是由于 Ca^{2+} 从细胞间隙的流入和/或从胞内存储库的释放(内质网、液泡、线粒体、叶绿体和核)。不同的外界信号涉及不同的 Ca^{2+} 库。Reddy(2001)指出冷诱导的 Ca^{2+} 浓度增加被质膜通道阻塞剂所抑制,但并不受细胞器通道阻塞剂所抑制,说明只有细胞间隙的 Ca^{2+} 对冷诱导的细胞质 Ca^{2+} 增加是有贡献的。Sanders 等(1999)报告,冷击诱导的细胞质 Ca^{2+} 浓度增加来自于细胞间隙和液泡。Gong 等人(1998)在烟草上运用 Ca^{2+} 抑制剂的试验表明,热激诱导的细胞质中增加的 Ca^{2+} 有从液泡中流入的也有从细胞间隙流入的。Monroy

和 Dhindsa(1995)认为,细胞质 Ca^{2+} 水平的短时间升高,对抗寒植物的抗寒锻炼是必须的,它起着低温信号的传递作用,引发抗寒基因的表达和抗寒力的提高。我们认为,尽管细胞质增多的 Ca^{2+} 来源是不同的,但是高温锻炼和低温锻炼诱导葡萄幼苗细胞质钙离子的升高对于抵御以后的重度低温胁迫和高温胁迫是必需的。

对未经高温锻炼的葡萄幼苗直接进行重度低温胁迫和对未经低温锻炼的葡萄幼苗直接进行重度的高温胁迫后发现,在重度温度胁迫的刺激下,细胞质膜聚集大量 Ca^{2+} 沉淀颗粒,但细胞超微结构被破坏,叶绿体片层结构紊乱,淀粉粒变形,质壁分离(图版 I 3 4)。这说明在重度温度胁迫下,未经高(低)温锻炼的葡萄幼苗失去了调节 Ca^{2+} 稳态平衡的能力,不能将细胞质中增加的 Ca^{2+} 泵回到钙库中,细胞结构受到破坏, Ca^{2+} 的第二信使功能丧失。Bush(1993)曾指出,细胞质中 Ca^{2+} 当其浓度和分布在适当范围变化时,会在植物对外界环境的适应性调节反应中起积极作用,但是当其浓度变化超过一定的范围时,就会破坏和扰乱细胞正常的结构与功能, Ca^{2+} 水平持续过高会扰乱从 ADP 生成 ATP 的能量代谢反应,对细胞产生毒害作用。Arora 和 Palta(1989)认为冰冻胁迫过程中细胞膜 Ca^{2+} 结合丧失和游离 Ca^{2+} 浓度的增加导致细胞不可逆的伤害,而 Ca^{2+} 信使功能的丧失是植物受寒害的早期反应。而经过高(低)温锻炼的葡萄幼苗,在经过重度的低(高)温胁迫 3 h 后,液泡膜内侧又出现了较多 Ca^{2+} ,细胞间隙 Ca^{2+} 增多,叶绿体完整,淀粉粒还存在,分布较大的 Ca^{2+} 沉淀颗粒(图版 I 8, 9)。这表明,葡萄幼苗经过高温锻炼和低温锻炼,胞质中 Ca^{2+} 升高,细胞的抗性得到了提高,当在重度的低温胁迫和高温胁迫下,不象未经高(低)温锻炼的,它们具备了调节 Ca^{2+} 稳态平衡的能力,能将胞质中增加的 Ca^{2+} 能够泵回到钙库中,细胞结构完整,没有受到伤害。这些结果说明,植物对高低温逆境的交叉适应过程中,维持的 Ca^{2+} 的稳态平衡也是非常重要的。

参 考 文 献

- Arora, R. & J. P. Palta. 1989. Perturbation of membrane calcium as a molecular mechanism of freezing injury. In: Cherry, J. H. ed. *Environmental stress in plants*. Heidelberg: Springer-Verlag. 281.
- Balagurova, N. I., T. V. Akimova & A. F. Titov. 2001. The effect of local cooling of cucumber and wheat seedlings on various kinds of stress resistance of their leaves and roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48: 95 ~ 99.
- Bush, D. S. 1993. Regulation of cytosolic calcium in plants. *Plant*

- Physiology, **103**:7 ~ 13.
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics, **82**:70 ~ 77.
- Fu, P., R. W. Wilen, A. J. Robertson, N. H. Low, R. T. Tyler & L. V. Gusta. 1998. Heat tolerance of cold acclimation puma winter rye seedlings and the effect of a heat shock on freezing tolerance. Plant and Cell Physiology, **39**:942 ~ 949.
- Gong, M., B. Chen, Z. G. Li & L. H. Guo. 2001. Heat shock induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H_2O_2 . Journal of Plant Physiology, **158**:1125 ~ 1130.
- Gong, M., M. R. Knight & A. J. Trewavas. 1998. Heat shock induced changes in intracellular Ca^{2+} level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance. Plant Physiology, **116**: 429 ~ 437.
- Jian, L. C. (简令成). 1999. The study summary about cell physiology mechanism of cold tolerance of plant. Chinese Bulletin of Botany (植物学通报), **16**(专刊):15 ~ 29. (in Chinese)
- Knight, H. & M. R. Knight. 2001. Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross talk. Trends of Plant Science, **6**:262 ~ 267.
- Kocsy, G., G. Galiba & C. Brunold. 2001. Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants. Physiologia Plantarum, **113**:158 ~ 164.
- Lu, C. M. & J. H. Zhang. 1998. Thermostability of photosystem II is increased in salt-stressed sorghum. Australian Journal of Plant Physiology, **25**:317 ~ 324.
- Meng, X. H., J. B. Wang & R. Q. Li. 1999. Role of ubiquitin bodies secreted by tapetum in Ca^{2+} transport. Chinese Science Bulletin, **44**:2640 ~ 2643.
- Minorsky, P. V. 1989. Temperature sensing by plants: a review and hypothesis. Plant, Cell and Environment, **12**:119 ~ 135.
- Monroy, A. F. & R. S. Dhindsa. 1995. Low-temperature signal transduction: induction of cold acclimation specific genes of *Alfalfa* by calcium at 25 °C. Plant Cell, **7**:321 ~ 331.
- Palta, J. P. 1996. Role of calcium in plant response to stresses: linking basic research to the solution of practical problems. Horticulture, **31**:51 ~ 57.
- Poovaliah, B. W. & A. S. N. Reddy. 1993. Calcium and signal transduction in plants. Critical Review of Plant Science, **12**:185 ~ 221.
- Poovaliah, B. W. 1993. Biochemical and molecular aspects of calcium action. Acta Horticulturae, **326**:139 ~ 146.
- Reddy, A. S. N. 2001. Calcium: silver bullet in signaling. Plant Science, **160**:381 ~ 404.
- Sanders, D., C. Brownlee & J. Harper. 1999. Communicating with calcium. Plant Cell, **11**:691 ~ 706.
- Tanaka, K., Y. Suda, N. Konda. & K. Sugahara. 1985. O_3 tolerance and ascorbate -dependent H_2O_2 decomposing system in chloroplasts. Plant and Cell Physiology, **26**:1425 ~ 1431.
- Tian, H. Q., A. X. Kuang, M. E. Musgrave & S. D. Russell. 1998. Calcium distribution in fertile and sterile anthers of a photoperiod-sensitive genic male-sterile rice. Planta, **204**:183 ~ 192.
- Wang, H. (王红), L. C. Jian (简令成) & J. R. Zhang (张举仁). 1994. Changes of level of Ca^{2+} in cells of rice seedlings under low temperature stress. Acta Botanica Sinica (植物学报), **36**:587 ~ 591. (in Chinese with English abstract)
- Wick, S. M. & P. K. Hepler. 1982. Selective localization of intracellular Ca^{2+} with potassium antimonite. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, **30**:1190 ~ 1204.
- Zeng, S. X. (曾韶西), Y. R. Wang (王以柔) & M. R. Li (李美茹). 1997. Effect of different pretreatment on membrane protection system of rice seedlings during cold stress. Acta Botanica Sinica(植物学报), **41**:156 ~ 160. (in Chinese with English abstract)
- Zhu, G. L. (朱广廉), H. W. Zhong (钟海文) & A. Q. Zhang (张爱琴). 1990. The experiment of plant physiology. Beijing: Beijing University Press. 245 ~ 248. (in Chinese)

责任编辑:林植芳 责任编辑:姜联合

图版 I 不同胁迫下葡萄叶片细胞 Ca^{2+} 的分布

Plate I Ca^{2+} distribution in grape leaf cell under heat or cold stress
Chl:叶绿体 Chloroplast Is 细胞间隙 Intercellular space PM:质膜 Plasma membrane V:液泡 Vacuole
1 2:适温下生长的葡萄叶片细胞中 Ca^{2+} 分布(25℃), Ca^{2+} distribution in leaf cell of young grape plants grown at optimal temperatur(25℃). $\times 3\,500$, $\times 15\,000$ 3:适温下生长的葡萄叶片经高温胁迫(44℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell of young grape plants treated at 44℃ for 3 h. $\times 8\,000$ 4:适温下生长的葡萄叶片经低温胁迫(-3℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell of young grape plants treated at -3℃ for 3 h. $\times 12\,000$ 5 6:葡萄叶片经过高温锻炼(38℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell after young grape plants acclimated at 38℃ for 3 h. $\times 20\,000$, $\times 12\,000$ 7:葡萄叶片经过低温锻炼(10℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell after young grape plants acclimated at 10℃ for 3 h. $\times 10\,000$ 8:葡萄叶片高温锻炼后又进行低温胁迫(-3℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell after young grape plants acclimated at 38℃ for 3 h were stressed at -3℃ for 3 h. $\times 8\,000$ 9:葡萄叶片低温锻炼后又进行高温胁迫(44℃)3 h 后细胞中 Ca^{2+} 分布。 Ca^{2+} distribution in leaf cell after young grape plants acclimated at 10℃ for 3 h were stressed at 44℃ for 3 h. $\times 5\,000$ 10:经过 EGTA 处理过的切片,在原来形成沉淀的部位上(如叶绿体)形成与原来沉淀物形状相同的电子透明区域。Section treated with EGTA showing electron-lucent areas at the sites where the particles were located before the treatment. Note that these electron-lucent areas are similar in shape to the precipitates. $\times 8\,000$