

应用 X 射线微区分析方法测定古白皮松 针叶细胞中的微量元素

何英姿

刘忠敏

(广西工学院科技处 柳州 545006)(北京师范大学分析测试中心 北京 100875)

摘要 本文应用电子探针 X 射线微区分析技术研究了古白皮松衰老与叶肉细胞中某些矿质营养元素之间的关系, 实验结果表明: 随着树木的衰老、衰弱, 细胞中的营养元素 K、Ca、Mg、Fe、Cu、Zn 的含量明显降低, 衰弱树中叶绿体有明显的缺钾特征, 特弱树中有 Fe 的积累。

关键词 X 射线微区分析 白皮松 衰老 微量元素

1 前言

白皮松为多年生常绿裸子植物, 是我国特有珍贵树种, 其寿命有的可长达数千年之久, 是研究园林树木生态习性、生物学特性的宝贵材料。我们以白皮松针叶为材料, 运用电子探针 X 射线微区分析技术, 分析叶肉细胞的超薄切片, 研究元素在植物体内的细胞和亚细胞水平的分布和含量, 以其获得某些元素对植物衰老和抗衰老的影响。为古树复壮技术提供一些理论上的依据。

2 材料与方法

2.1 实验材料的采集

由于古白皮松的数量有限, 我们按树龄(A 级 300 年以上, B 级 100 年至 300 年)和壮弱分别选取。壮树为生长势良好, 针叶较长, 色翠绿, 饱满, 树冠大; 弱树为生长势较差, 针叶瘦小且短, 枯枝较多, 树冠不明显; 特弱树为濒于死亡, 针叶叶尖发黄或全部发黄, 且带叶枝条稀疏, 无树冠。

2.2 针叶样品处理

取新鲜叶样洗净擦干, 剪中段切成 1mm 的小块, 用 3% 戊二醛固定半小时, 经 30%、50%、70%、85%、90%、85%、100%、100% 的丙酮系列脱水, 逐级停留 10min, 换入丙酮与 Epon 包埋剂(配比分别为 3:1、2:1、1:1)中渗透各 1h, 最后用纯包埋剂浸透过夜, 在包埋模板上做定向包埋, 以取得针叶的纵切面, 放入恒温箱 37℃ 聚合 12h, 45℃ 聚合 12h, 60℃ 聚合 24h, 即

得到包埋块。

2.3 透射能谱分析

将包埋块中样品一端修成梯形平台, 在 LKB 超薄切片机上切出 900Å 以内的薄切片, 用事先做好的支持膜并喷渡了一层碳膜的 200 目尼龙网捞片, 自然干燥后即可在电镜下观察。在 H-800 型透射电镜下找到叶肉细胞, 用 EDAX-9100 能谱分析仪作细胞面扫描分析, 用点分析叶绿体, 收集元素谱峰, 得到的谱峰用无标样法计算各元素的峰值与相对重量比(wt%)。

3 实验结果

在试验条件下, 叶肉细胞中能检测出 Mg、Si、P、S、Cl、K、Ca、Ti、Fe、Cu、Zn 11 种元素, 因包埋剂中含 Cl, 所以所得谱图中 Cl 含量最高, 并不能代表细胞中真实的 Cl 含量。我们就 Mg、K、Ca、Ti、Fe、Cu、Zn 作重点分析比较, 各元素的分布及相对含量概括如下:

3.1 叶肉细胞的面扫描分析

由图 1 至图 5 及表 1 中可以看出, 在 A 级和 B 级壮树中各元素的含量均比较高, 其峰值排列次序如下: Fe > Ca > Ti > K > Zn > Cu > Mg。其中 Cu 和 Zn 在壮树中能测出小峰, 峰值达到 3-4 左右, 在弱树中则几乎没有; K 和 Ca 在弱树中亦明显下降; Fe 峰在各类树中都比较高, 尤其在特弱树中峰值明显上升超过壮树; Mg 在各元素中含量最低, 几乎检测不出; Ti 在各类树中均有峰值, 并在树龄较老的 A 级树中含量较高, 弱树相对低些。

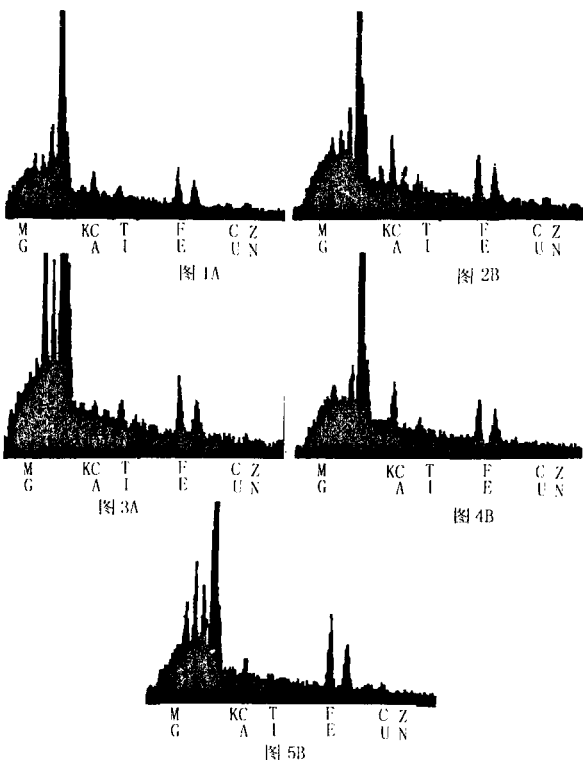


图 1 至图 5 各类古树的叶肉细胞面扫描分析能谱图 (图 3 放大两倍)

表 1 各类树的叶肉细胞面分析中各元素峰值 (峰面积) 的比较

	Mg	K	Ca	Ti	Fe	Cu	Zn
A	1.807	5.628	13.513	7.682	18.692	3.558	4.900
A*	0.000	2.830	3.763	4.926	9.425	1.614	0.984
B	1.365	4.565	12.677	5.907	12.877	3.045	3.694
B*	0.649	2.333	9.610	4.024	9.421	1.544	1.072
B**	0.962	2.349	4.601	3.395	19.352	2.555	1.121

A: A 级壮树 A*: A 级弱树

B: B 级壮树 B*: B 级弱树 B**: B 级特弱树 (以下同)

3.2 叶绿体的点分析

由图 6 至 10 图及表 2 中可以看出,叶绿体中检测不出 Ti、Cu、Zn,在壮树中 K 峰比 Ca 峰高,弱树中则 K 明显低, Ca, Fe 峰依然较高。在特弱树中几乎只有 Fe 峰, K、Ca、Mg 都低于检测的临界水平。Mg 在壮树中含量明显高于弱树。

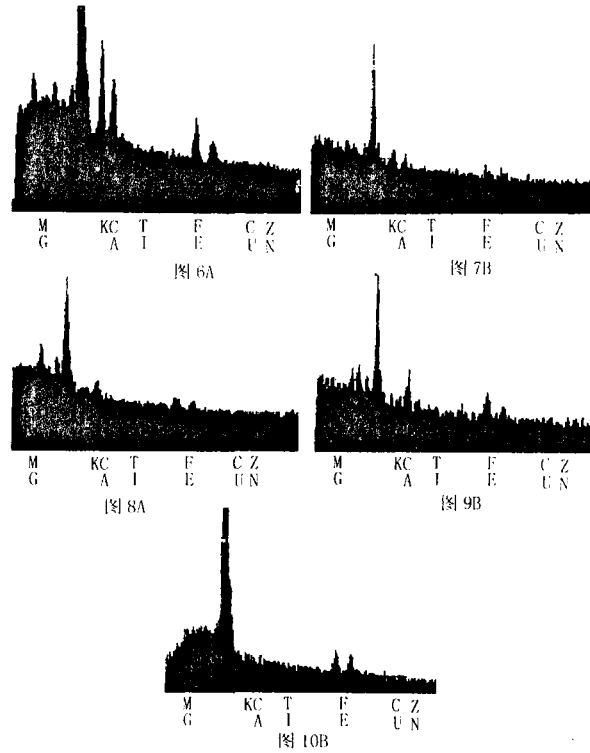


图 6 至图 10 各类古树的叶绿体点分析能谱图 (图 6 放大两倍)

表 2 各类树的叶绿体点分析中各元素相对重量 W% 的比较

	Mg	K	Ca	Fe
A	11.670	39.717	27.416	17.014
A*	6.905	21.722	33.651	28.440
B	25.035	27.354	19.905	19.164
B*	8.284	16.091	32.839	39.164
B**	/	/	/	99.531

4 分析与讨论

应用电子探针能谱分析所测定的矿质营养元素在壮树与弱树之间有着明显的差异。随着树木的衰弱,叶肉细胞内各元素的含量普遍降低,这与人用生理生化方法所做的结果是一致的。说明营养元素在细胞内水平的高低,对植物的生长发育影响很大。K⁺是植物代谢过程中不可缺少的酶活化剂,在植物细胞中大部分存在于叶绿体。我们的试验结果也表明 K⁺在叶绿体中的含量较高。相对重量比在所测各元素中是最高的。而且还发现在弱树的叶肉细胞中, K 在叶绿体里的含量明显低于壮树,并且此缺钾的叶绿体一般含有巨大的淀粉粒。我们认为其原因可能是钾对淀粉转化为可溶性碳水化合物有促进作用,能帮助叶绿体内合成的淀粉不断分

解运出叶绿体。因此,缺钾对淀粉不能正常分解,沉积在叶绿体中,占用了很大空间,而叶绿体的基粒数目受到限制,类囊体的垛迭减少,致使光合作用下降,碳水化合物形成不足,弱树的抗病害能力降低,容易衰老死亡。

在我们的试验中,Ca在叶肉细胞中的峰值随树木的壮弱变化很明显,即在壮树中含量很高,在弱树中含量低。 Ca^{2+} 可作为膜的稳定剂,并能促进 K^+ 的吸收,对维持染色体结构,延缓植物衰老都有重要作用。由于钙能防止细胞壁松弛和膜孔扩大,从而控制了细胞内物质的外渗。衰弱树缺钙,细胞膜透性增大,胞内物质外渗,受钙调素控制的许多酶蛋白亦不能发挥作用,影响了细胞正常的生命活动。叶绿体中Ca含量的减少,亦会使超氧物自由基的产量上升,叶绿体膜流动性增大,从而使叶绿体受到损伤。虽然在我们所做的样品中叶绿体点分析的结果是Ca在弱树中的相对含量升高,但细胞总的Ca水平还是降低的,在特弱树中叶绿体里也检测不到Ca了。

Fe在所测出的元素峰中,基本是最高最明显的。由于Fe主要以植物铁蛋白形式存在,在样品制备过程中基本上未流失,故此峰较高。叶肉细胞中铁亦主要集中于叶绿体内,能影响叶绿体的结构和叶绿素的形成,因而弱树中铁含量相对降低。至于特弱树中铁含量反而增加,有可能是铁过剩造成毒害。但病情诊断仍需多方面的调查研究。

Mg作为叶绿素的核心成分,在叶绿体中有一定的峰值。壮树中镁的相对重量比占11-25%,弱树中则降低了1至3倍。缺镁使弱树叶绿素含量降

低,叶绿体光合片层减少。特弱树针叶已发黄,叶绿素含量更低,叶绿体多被破坏。

Cu和Zn只在壮树的叶肉细胞面扫描分析中收集到峰,两者在植物体内的含量均是极其微量的。在衰弱树中测不到Cu峰和Zn峰,可认为是Cu、Zn缺乏。

值得注意的是,在叶肉细胞的面扫描分析中收集到明显的Ti峰,而且在A级树中的峰值比B级树高,即似乎与树龄有一定相关性。在衰弱树中峰值也比壮树低。据有关土壤和叶组织灰分的ICP数据中可知,土壤中Ti的浓度较高,但叶组织中Ti则极其微量,为5个ppm(mg/kg)以下。因此,古白皮松叶肉细胞中出现的Ti峰是个值得注意的问题。由于Ti不是植物必需的营养元素,目前研究甚少,其在古白皮松中所起到的作用有待进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 林钧安,高锦梁,洪健主编.实用生物电子显微术.沈阳:辽宁科学技术出版社,1989
- [2] 李卓杰,傅家瑞.中国油料,1990,4:72-75
- [3] (德)H.马斯纳著,曹一增等译.高等植物的矿质营养.北京:北京农业大学出版社,1991
- [4] Suelter, C. H. . Potassium in Agriculture. 1985: 336-349
- [5] Poovaian, B. W. . American Society of Plant Physiology, 1987: 182-189
- [6] 唐崇钦等.植物生理学报,1982,8:164-172
- [7] 皱邦基,何雪晖.植物的营养.北京:农业出版社,1985

Determination of minimal elements in old *Pinus bungeana* leaf cells by x-ray microanalysis

He Yingzi

(Department of Science and Technology, Guangxi Institute of Technology, Liuzhou 545006)

Liu Zhongmin

(Center of Analysis and Testing, Beijing Normal University, Beijing 100875)

Abstract The relationship between the senescence of old *Pinus bungeana* and some minimal mineral nutritive elements was studied by the electron probe x-ray microanalysis. The results showed that with the senescence and debilitating of the trees, the amount of nutritive elements K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn decreased remarkably in cell. The chloroplasts in weak trees had the characteristics of potassium deficiency. Those in the weakest tree had the ferrum accumulation.

Key Words x-ray microanalysis, *Pinus bungeana*, senescence, minim element