

水仙生长过程中叶片光合性能与叶绿体超微结构的变化*

邱瑾¹ 钟然² 韩闯² 杨盛昌^{2**} 陈平³

(1. 三明学院化学与生物工程系 三明 365000; 2. 厦门大学生命科学学院 厦门 361005; 3. 厦门大学电镜室 厦门 361005)

摘要 试验测定了水仙抽葶、开花、凋花、花后 4 个时期叶片光合速率、蒸腾速率、叶绿素和蛋白质含量等,并观察了叶片叶绿体超微结构的变化。结果表明,随水仙的生长发育,其叶片含水量、气孔导度明显降低,净光合速率、暗呼吸速率及光合/呼吸比值迅速下降,蒸腾速率和水分利用率也随之降低,叶绿素含量显著上升,叶绿素 a/b 比值缓慢降低,可溶性蛋白质含量也呈下降趋势。电镜观察显示叶片叶绿体超微结构在抽葶期基粒、基质片层结构发达而清晰,开花期则膨胀松散,凋花期表现萎缩,而在花后生长期片层结构解体。

关键词 水仙 生长发育 光合性能 叶绿体 超微结构

Changes of photosynthetic efficiency and chloroplast ultrastructure of narcissus leaf blades in different development stages. QIU Jin¹, ZHONG Ran², HAN Chuang², YANG Sheng-Chang², CHEN Ping³ (1. Engineering Department of Chemistry and Biology, Sanming College, Sanming 365000, China; 2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. Electron Microscope Lab, Xiamen University, Xiamen 361005, China), *CJEA*, 2007, 15(2): 92~95

Abstract At four development stages of narcissus, i. e. narcissus-bolting stage, flowering stage, blossom fall stage and post floral stage, some physiological and biochemical characteristics of leaf blades, such as photosynthetic rate, transpiration rate, contents of chlorophyll and protein were measured and the change course of the chloroplast ultrastructure was observed. With the development of narcissus, the water content and stomata conductance decrease significantly, the net photosynthetic rate, the respiratory rate and the ratio of photosynthetic rate to respiratory rate also decrease obviously, whereas the content of chlorophyll rises obviously, the value of chlorophyll a/b reduces tardily and the content of soluble protein presents a decreased tendency. Furthermore, the electron microscope observation shows that the ultrastructures of chloroplast grana and grana lamella are developed and clear at bolting stage, inflated and loose at flowering stage, withered at blossom fall stage and disaggregated at post floral stage.

Key words Narcissus, Development, Photosynthetic efficiency, Chloroplast, Ultrastructure

(Received Aug. 20, 2005; revised Nov. 21, 2005)

叶片是植物利用光能、合成有机化合物的重要场所,在植物不同生长发育时期,叶片的细胞结构、物质组成及生理生化代谢等均发生显著变化。叶片的光合性能与其叶绿体超微结构紧密相关^[1,2]。水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis* Roem.)是冬季开花的主要观赏植物之一,其室内培养一般从生根长叶始至花朵凋谢为止。应用生长调节剂可以矮化水仙、增加花数和延长开花期^[3~5]。龙岳林等^[6]研究了水仙在生长期中 N、P、K 动态变化的规律,但有关水仙生长发育进程中叶片光合作用、水分代谢及叶绿体超微结构的变化尚未见报道。本实验通过水仙生长过程中抽葶、开花、凋花、花后 4 个时期的叶片测定和制片,研究水仙生长过程中叶片光合性能及其叶绿体超微结构的变化规律,为有效调控水仙生长发育,延缓叶片衰老,指导大田生产中的栽培管理提供理论依据。

1 试验材料与方法

挑选大小一致的漳州水仙 3 年生鳞茎球 6 个,剥去外表褐色鳞片并刮净旧根。清水浸根培养,每 3d 换 1 次水,并置于光照培养箱中培养,培养条件为光照 14h/d,光照强度 $80\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 17°C 。在水仙抽葶、开

* 福建省科技项目(99-Z-105)资助

** 通讯作者

收稿日期:2005-08-20 改回日期:2005-11-21

花、凋花、花后4个时期分别测定相应部位成熟叶片各项指标。其中叶片净光合速率、暗呼吸速率、蒸腾速率、气孔导度的测定采用英国PPSYSTEM公司的CIRAS-1型便携式光合测定系统。室内测定条件为温度 $23(\pm 1)^{\circ}\text{C}$,有效光辐射 $700(\pm 100)\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$,相对湿度 $65(\pm 5)\%$, CO_2 浓度 $360(\pm 10)\text{mg}/\text{kg}$ 。水分利用率为净光合速率与蒸腾速率的比值。每个测定重复3次以上。剪取相应部位成熟叶片中段,叶绿素含量参照Arnon法^[7]测定,可溶性蛋白质含量参照Bradford法^[8]测定。称取样叶片鲜重,并烘干至恒重,计算叶片含水量。每个测定重复3次。从相应部位成熟叶片中段切取1mm的小块,放入5%戊二醛磷酸缓冲液(pH7.4)中,经抽气后在 4°C 下固定24h。用磷酸缓冲液洗4次,入2%锶酸中固定。漂洗后,乙醇逐级脱水,环氧树脂Epon618包埋,LKB-V型超薄切片机切片。经醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色后,于JEM-100CX II型透射电镜下观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 水仙生长过程中叶片净光合速率、暗呼吸速率及其比值的变化

由表1可知,随着水仙生长发育,叶片净光合速率在进入花期时就降至很低水平,暗呼吸速率则为逐步下降,光合/呼吸比值在抽葶期较高,而后极显著下降,但光合作用仍大于呼吸作用。

表1 水仙生长过程中叶片净光合速率、暗呼吸速率及其比值的变化*

Tab.1 Changes of net photosynthetic rate, respiratory rate and the ratio of photosynthetic rate to respiratory rate of leaves in different development stages of Chinese narcissus

项 目	抽葶期	开花期	凋花期	花后期
Items	Bolting stage	Flowering stage	Blossom fall stage	Post floral stage
净光合速率/ $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$6.15\pm 1.19\text{A}$	$1.49\pm 0.37\text{B}$	$1.23\pm 0.16\text{B}$	$0.25\pm 0.04\text{B}$
暗呼吸速率/ $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$4.70\pm 0.25\text{A}$	$3.03\pm 0.58\text{B}$	$1.80\pm 0.12\text{C}$	$0.80\pm 0.25\text{D}$
光合/呼吸	$1.31\pm 0.07\text{A}$	$0.49\pm 0.04\text{C}$	$0.69\pm 0.02\text{B}$	$0.31\pm 0.04\text{D}$

* 表中同列数据后不同字母表示数据间差异极显著($P<0.05$),下同。

2.2 水仙生长过程中叶片含水量、气孔导度、蒸腾速率和水分利用率的变化

表2 水仙生长过程中叶片含水量、气孔导度、蒸腾速率和水分利用率的变化

Tab.2 Changes of water content, stomata conductance, transpiration rate and water use efficiency of leaves in different development stages of Chinese narcissus

项 目	抽葶期	开花期	凋花期	花后期
Items	Bolting stage	Flowering stage	Blossom fall stage	Post floral stage
叶片含水量/%	$93.56\pm 0.23\text{A}$	$93.20\pm 0.55\text{AB}$	$92.75\pm 0.50\text{B}$	$91.69\pm 0.37\text{C}$
气孔导度/ $\mu\text{mol}(\text{H}_2\text{O})\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$177.33\pm 22.86\text{A}$	$89.33\pm 2.04\text{B}$	$21.67\pm 0.41\text{C}$	$18.33\pm 4.09\text{C}$
蒸腾速率/ $\text{mmol}(\text{H}_2\text{O})\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$2.11\pm 0.35\text{Aa}$	$0.98\pm 0.17\text{Bb}$	$0.79\pm 0.05\text{BCc}$	$0.66\pm 0.04\text{Cc}$
水分利用率/ $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\cdot\text{mmol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$	$2.91\pm 0.15\text{A}$	$1.52\pm 0.11\text{B}$	$1.56\pm 0.05\text{B}$	$0.38\pm 0.15\text{C}$

表2显示随水仙的生长发育,叶片含水量逐步降低,气孔导度和蒸腾速率也极显著下降,水分利用率在抽葶期较高,之后也极显著降低。叶片含水量的下降说

明植株根系吸水能力的降低,气孔导度的下降说明气孔已部分关闭,而气孔的关闭与叶片含水量下降有直接关系,进而影响叶片光合作用和蒸腾作用,间接影响水分利用率。

2.3 水仙生长过程中叶片叶绿素含量及组成和可溶性蛋白质含量的变化

由表3可知叶绿素含量随水仙生长呈极显著上升,到花期之后仍有相当高水平,水仙生长的黄叶期尚未到来;叶绿素a/b比值却随之下

表3 水仙生长过程中叶片叶绿素含量及可溶性蛋白质含量的变化

Tab.3 Changes of chlorophyll content and soluble protein content of leaves in different development stages of Chinese narcissus

项 目	抽葶期	开花期	凋花期	花后期
Items	Bolting stage	Flowering stage	Blossom fall stage	Post floral stage
叶绿素含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	$0.39\pm 0.05\text{A}$	$0.56\pm 0.07\text{B}$	$0.72\pm 0.09\text{C}$	$0.77\pm 0.11\text{C}$
叶绿素 a/b	$3.64\pm 0.55\text{Aa}$	$3.27\pm 0.18\text{Aa}$	$3.03\pm 0.22\text{ABb}$	$2.92\pm 0.05\text{Bb}$
可溶性蛋白质含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	$2.56\pm 0.02\text{Aa}$	$1.97\pm 0.13\text{ABc}$	$1.69\pm 0.38\text{Bd}$	$2.13\pm 0.31\text{Ab}$

间有显著变化。可溶性蛋白质含量从抽葶期至凋花期为显著下降,到了花后生长期有极显著回升,可能是由于开花期水仙叶片净光合速率和可溶性蛋白质含量为下降趋势,虽然叶绿素含量呈上升变化,但其叶绿素a/b比值却下降,说明叶片生理生化变化在抽葶期之后基本上是衰退过程。可溶性蛋白质含量在花后生长期有所反弹,可能前期下降主要由于蛋白水解酶活性加强所致,蛋白质合成能力并未减弱,一旦开花停

止,因减少营养消耗而含量上升。

2.4 水仙生长过程中叶片叶绿体超微结构的变化

发育良好的水仙叶绿体外表光滑,大多呈纺锤形(图 1a),从图 1a 开花期水仙叶肉细胞超微结构图中可见细胞核 N、核仁 Nu、叶绿体 Ch、线粒体 Mi、微体 Mb、粗糙型内质网 RER、高尔基复合体 Gc 等结构,微体与叶绿体、线粒体紧密相靠,叶绿体、线粒体结构发达。叶绿体的内部结构在不同的发育时期有所变化。生根长叶期的叶绿体片层结构相对简单,基粒片层(GI)垛叠程度小,基质片层(SI)少,但基质(SI)浓度大(图 1b)。随着水仙生长发育,叶绿体片层结构复杂化,抽葶期的片层结构增多,基粒数多,其类囊体腔小而扁平,垛叠紧密而清晰,基质片层连接其间,形成连续的膜体系,基质区电子致密度较高(图 1c),表明光合膜系统完善,具有较强的光合能力,还可见其间有明显的淀粉颗粒(Sg)。到了开花期,叶绿体片层结构发达,基粒片层数较多,基质片层丰富,但类囊体有些膨大,基粒松散(图 1d)。在凋花期,基粒片层萎缩,基质片层消失,基质浓度明显降低,使基质区电子致密度下降,有许多较大淀粉颗粒(图 1e)。花后生长期的叶绿体片层结构模

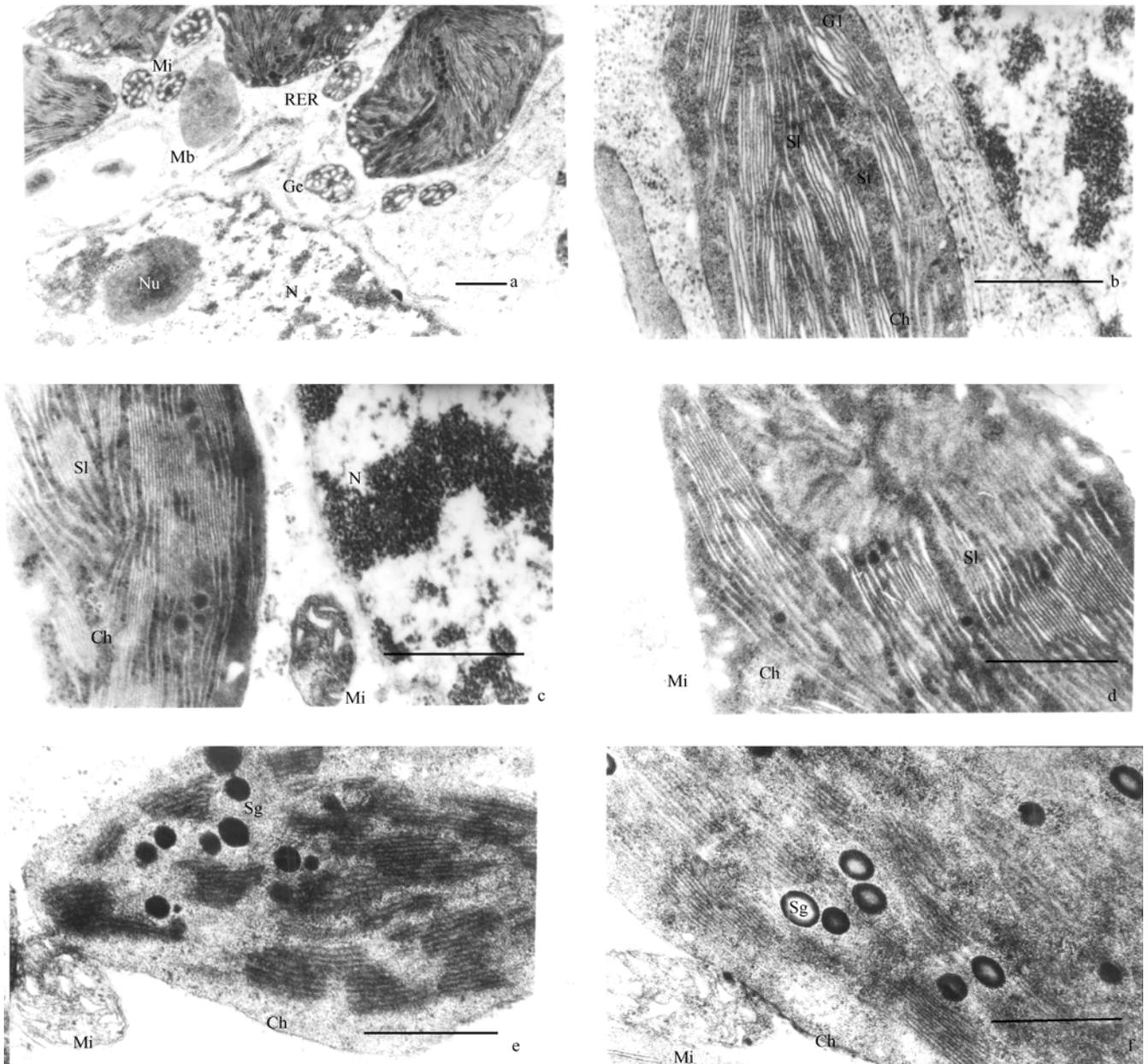


图 1 水仙生长发育过程中叶片叶绿体超微结构的变化*

Fig.1 Changes of the ultrastructure of chloroplast of leaves in Chinese narcissus during development

* 图 1a 为开花期的水仙叶肉细胞超微结构,示叶绿体等多种细胞器,×14000 (bar=0.35 μ m);图 1b 为生根长叶期的叶绿体超微结构,示片层结构简单,×40000 (bar=1 μ m);图 1c 为抽葶期的叶绿体超微结构,示片层结构复杂,基粒片层垛叠紧密而清晰,×40000 (bar=1 μ m);图 1d 为开花期的叶绿体超微结构,示类囊体有些膨大,基粒片层垛叠松散,×40000 (bar=1 μ m);图 1e 为凋花期的叶绿体超微结构,示基粒片层模糊,基质片层消失,×40000 (bar=1 μ m);图 1f 为花后生长期的叶绿体超微结构,示片层结构模糊,×40000 (bar=1 μ m)。

糊,看不清完整的基粒,基质区电子致密度降低,有较多大淀粉粒(图1f),表明片层结构受到破坏。结合净光合速率变化来看,抽葶期水仙叶片较高的净光合速率显然与此时叶绿体片层结构清晰且发达有一定的关系,此后叶绿体片层结构变化表现为先膨胀松散,之后萎缩解体。

3 小结与讨论

光合速率高低是叶片光合性能的最终体现,叶绿体具有转换光能为化学能的膜系统,即有基粒片层和基质片层,片层结构的完整有序是光能转换正常有效进行的保证,其上不仅载有活跃的叶绿素,也有专一的酶成分,二者耦联才能执行功能^[9]。本实验结果显示随着水仙生长发育,叶片净光合速率、暗呼吸速率及光合/呼吸比值迅速下降,叶绿素含量显著上升,叶绿素 a/b 比值缓慢降低,可溶性蛋白质含量基本呈下降趋势。影响光合作用的因素很多,在叶绿体方面不仅与叶绿素的总量有关,还与类囊体膜的垛叠程度和叶绿素在膜上的分布状态以及 RuBP 羧化酶活性有关。从本实验电镜观察结果看,抽葶期水仙叶片叶绿体片层结构清晰且发达,而此时有较高的净光合速率,因此认为叶绿体结构的损害是造成光合作用下降的重要原因之一。此外,光合作用也受叶片气孔行为的调控。

气孔导度的变化是导致叶片净光合速率、蒸腾速率、水分利用率等变化的直接原因,高的气孔导度有利于 CO₂ 的扩散,增进光合作用,但气孔导度对蒸腾速率的影响更为显著。本实验中随着水仙的生长发育,其叶片含水量、气孔导度和蒸腾速率明显下降,水分利用率也呈下降趋势。这可能是随着水仙的生长发育,其根系吸水能力降低使叶片含水量下降,导致气孔导度减小,进而引起光合速率、蒸腾速率和水分利用率的下降。

水仙从抽葶期至花后生长期,叶片叶绿素含量呈上升趋势,净光合速率虽下降,但光合作用仍大于呼吸作用,可溶性蛋白质含量前期因开花而下降,花谢后又回升,说明水仙一旦开花,叶片就进入了衰老的起始阶段,花期结束后叶绿体片层结构出现不可逆的损害,显现衰老的典型特征。研究水仙在不同生长发育时期的生理生化及超微结构的变化,有助于在生产实践中对水仙叶片衰老进行调控,并为其分子育种提供理论依据。

参 考 文 献

- 1 李爱民,陈泽濂,叶秀麟.墨兰幼叶和成熟叶不同部位叶绿体超微结构和光合作用.热带亚热带植物学报,2000,8(3):225~228
- 2 王群瑛,胡昌浩.玉米不同叶位叶片叶绿体超微结构与光合性能的研究.植物学报,1988,30(2):146~150
- 3 符明.PP₃₃₃对水仙生长发育的影响.海南大学学报,1998,16(4):351~355
- 4 汪良驹,孙文全,李友生.PP₃₃₃对水仙花的矮化效应及其生理机制初探.园艺学报,1990,17(4):313~315
- 5 章骏德.多效唑复合剂对水仙生长的控制.植物生理学通讯,1995,31(5):349~350
- 6 龙岳林,王奎武,许春英.水仙生长期 N、P、K 含量的动态变化.湖南农业大学学报,1997,23(3):234~237
- 7 Arnon D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol., 1949, 24(1): 1~15
- 8 Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72: 248~254
- 9 Govindjee W. Bioenergetics of Photosynthesis. New York: Academic Press, 1975. 52