

高山植物短管兔儿草光合作用特性及其对冰冻胁迫的反应

卢存福

(北京林业大学生物学院生物中心 北京 100083)

简令成

(中国科学院植物研究所 北京 100093)

贲桂英

(中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810001)

摘要 短管兔儿草为典型的高山植物,具有较强的光合能力,但光合效率较低。叶片具有发达的通气贮气组织,栅栏组织发达,叶绿体基粒片层较少。短管兔儿草光合作用特性易受生长环境因素的影响。低温胁迫使短管兔儿草光合速率、光合量子产额降低。低温下的光照加剧了光合作用受抑制的程度。本研究表明,短管兔儿草具有较强的抗冻能力,是研究植物抗冻机理及筛选抗冻基因的理想材料。

关键词 高山植物,短管兔儿草,光合作用,冰冻胁迫

Photosynthesis in Alpine Plant *Lagotis brevituba* and Its Response to Freezing Stress

LU Cun-Fu

(Experimental Center of Forest Biology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

JIAN Ling-Cheng

(Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

BEN Gui-Ying

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

Abstract *Lagotis brevituba*, a typical alpine plant grown on Daban mountain (E. 4000 m), has higher photosynthetic capacity but lower quantum yield efficiency. The leaves of *Lagotis brevituba* possess well-developed palisade tissue, large intercellular spaces. The chloroplast structure is special, it has less grana. The special tissue and cell structure is the basis of the photosynthetic characteristics in *Lagotis brevituba*. The photosynthetic apparent quantum yield of *Lagotis brevituba* grown in the culture room (PAR: 60 ~ 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; mean day/night temperature: 15/10 $^{\circ}\text{C}$) was higher than that grown in the green house (PAR: highest 1250 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; mean day/night temperature: 24/13 $^{\circ}\text{C}$), whereas the photosynthetic rate and Hill reaction rate were the opposite. Exposure of *Lagotis brevituba* to freezing stress resulted in declines of photosynthetic rate and apparent quantum yield. The freezing stress was more inhibitive to the photosynthesis under light (90 ~ 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) than under the dark. Our experimental results indicate that *Lagotis brevituba*

作者简介:卢存福,34岁,副教授。1996年毕业于中国科学院植物研究所,获植物生理学博士学位。1996~1998年在北京林业大学做博士后研究工作。已发表论文10余篇,主要从事植物抗逆性的细胞及分子生物学研究。简令成,67岁,研究员,《实验生物学报》及《Cell Research》编委。长期从事植物抗寒机理和植物细胞骨架的研究,共发表论文100余篇及专著一本。他主持的“植物抗寒机理及抗寒剂的研究”获1993年中国科学院自然科学奖二等奖。

收稿日期:1999-10-22 接受日期:1999-11-16 责任编辑:刘 晖

might possess particular freezing resistant mechanism and be a good plant for isolation and screening of freezing resistant genes.

Key words Alpine plant, *Lagotis breviflora*, Photosynthesis, Freezing stress

青藏高原是世界上最大的高原,又称地球第三极。该地区气候条件特殊:气压低、日辐射强、温度低,生长季节内植物经常遭受冰冻的侵袭。在如此恶劣的生态环境中生存的植物一定有其特殊的结构特征及生理生态适应机制。为此,我们于生长季节(7月份),以生长于青海高原海拔4 000 m达坂山山顶的短管兔儿草(*Lagotis breviflora*)为材料,测定了叶片的光合速率及其对低温胁迫的反应,并观测了叶片的显微、超微结构,以期揭示高山植物的光合特性及特殊的抗冻机理。

1 材料和方法

于植物生长季节从达坂山山顶(EL. 4 000 m)将短管兔儿草用塑料花盆带土移植到西宁(EL. 2 200 m)中科院西北高原所院内,放置树林中见光处,定时浇水,适应2~3 d,测定光合指标。

在植物地上部枯死的10月份,于达坂山山顶移植短管兔儿草根到花盆中,分别培养在生长室和温室两种环境下,以揭示环境因子对高山植物光合特性的影响。温室内昼夜平均温度为24/13℃,光照强度最高为1205 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,最低为35 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$;生长室内昼夜平均温度为15/10℃,光照强度为60~70 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。低温胁迫处理:用冰箱冻室作低温处理,冻室内加8w日光灯管4支,光照强度为90~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。遮光用黑色纸袋将材料罩住,并保持罩内外空气畅通。

光合速率、光合表观量子产额按李德耀等(1982)的方法用SP-2型液相极谱氧电极测定。表观量子产额通过光-光合作用曲线的最初直线部分的斜率计算(Adams等1986)。光呼吸的测定依照Cao等(1988)的方法。参照叶济宇和钱月琴(1985)的方法提取叶绿体,并测定希尔反应活性。光合有效辐射(PRA)用LI-188B辐射仪测定。

光镜切片制样及观察:叶片在Carnoy固定液固定,按常规方法制作石蜡切片,PAS染色,在Leitz orthoplan显微镜下观察与照相。

电镜制样观察:采用4%戊二醛和1%锇酸固定叶片,乙醇梯度脱水,Epon812树脂渗透包埋,MT-6000型超薄切片机切片,醋酸双氧铀、柠檬酸铅双染色,JEM-100 CX透射电镜下观察与照相。

2 实验结果

2.1 短管兔儿草的光合作用特性

短管兔儿草是典型的高山植物,用野外移回的植株直接测定结果表明,这种植物有较强的光合能力,最大光合速率可达12.69 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光补偿点为89 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光饱和点为767 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$;但光合效率较低,光合作用量子产额仅为0.014~0.016。

显微结构显示,短管兔儿草叶片栅栏组织发达,一般可达3~4层细胞,细胞间隙发达。叶肉细胞内叶绿体丰富。海绵组织内通气、储气组织发达(图版I,图1)。这种结构

特点同以往的报道是一致的(王为一,1985)。超微结构显示,短管兔儿草叶片叶肉细胞内叶绿体类囊体基粒片层不发达,表现为典型阳生植物的结构特点(图版 I,图 3)。叶绿体内淀粉粒较为丰富,拟脂颗粒较多(图版 I,图 2)。这些结构特点,决定了短管兔儿草特殊的光合性能。

不同的生态环境对短管兔儿草的光合作用影响明显。温室内生长的短管兔儿草最大光合速率、希尔反应活性、光补偿点、光饱和点均较培养室内生长的高,而光合表观量子产额却低。植物生长环境对光呼吸也有影响,培养室内生长的短管兔儿草光合强度明显高于温室内的(表 1)。

表 1 从达坂山(EL4000 m)移植到不同生长环境中的短管兔儿草的光合特性

Table 1 Comparison of photosynthetic characteristics of *L. brevituba* transplanted to different environment conditions from Daban Mt. (EL. 4000 m)

生长环境 Environment	光合速率 Photosynthetic Rate ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	希尔反应活性 Hill reaction rate ($\mu\text{mol Fe (CN)}_6^{4-} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ch} \cdot \text{h}^{-1}$)	光合量子产额 Quantum yield ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ photon}^{-1}$)	光补偿点 Light compensation ($\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	光饱和点 Light saturation ($\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	光呼吸 Photorespiration rate ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
生长室 Culture room	6.21	38.34	0.071	25	239	6.43
温室 Green house	11.91	62.75	0.039	29	364	4.62

2.2 短管兔儿草光合作用对低温胁迫的响应

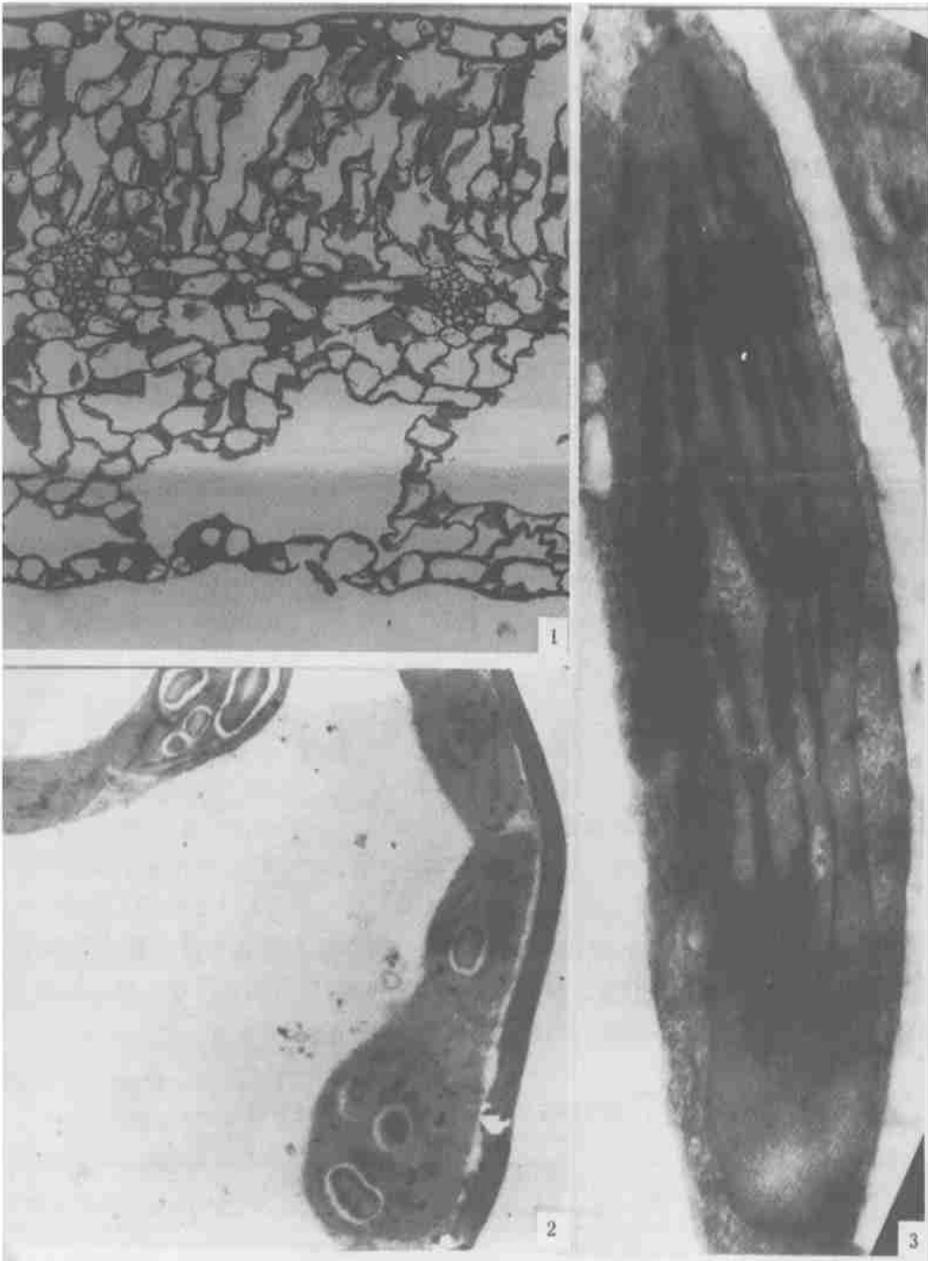
由表 2 可知,短管兔儿草经 -5 ~ -6 处理 7 h 后,光合速率、表观量子产额均降低。低温下的光照加剧了这种降低的程度,-5 ~ -6 光照处理 7 h 后已检测不出光合放氧活性。-13 ~ -14 处理 2 h,仍有光合放氧,但光合速率和表观量子产额均明显下降。此温度处理 3.5 或 5 h,光合放氧已检测不出。由此推断,短管兔儿草经 -13 ~ -14 胁迫处理可能存在使光合放氧受抑制的临界时间长度。

表 2 低温胁迫对短管兔儿草光合作用的影响

Table 2 Effect of freezing stress on photosynthesis of *L. brevituba*

处理 Treatment	光合量子效率 ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ photon}^{-1}$) Quantum yield ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ photon}^{-1}$)	光合速率 Photosynthetic rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
对照 Control	0.016	12.69
-5 ~ -6 黑暗(dark) 7 h	0.012	6.06
-5 ~ -6 光照(light) 7 h	- *	-
-13 ~ -14 黑暗(dark) 2 h	0.011	1.49
-13 ~ -14 黑暗(dark) 5 h	-	-

: “-”表示未检测到光合放氧活性。: “-”indicated that photosynthetic O_2 evolution was not detected.



图版 I 短管兔儿草叶片组织及叶肉细胞叶绿体结构

1. 叶片横切面(示栅栏组织、通气及贮气组织)。2. 叶肉细胞内叶绿体分布(示淀粉粒、拟脂颗粒)。3. 叶绿体超微结构(示基粒、基质片层结构、拟脂颗粒)。

Plate I Leaf structure and chloroplast ultrastructure of mesophyll cells in *Lagotis breviflora*.

1. Leaf cross section of *Lagotis breviflora*, showing well-developed palisade tissues and aerenchyma (for storing air and furnishing carbon dioxide). 2. Chloroplasts in mesophyll cells of *Lagotis breviflora*, showing starch grains and lipid granules. 3. Ultrastructure of chloroplast, showing the grana with less granum-thylakoids and the distribution of lipid granule.

3 讨论

有人报道,分布于高海拔地区的植物有较高的光合潜力(Ledig和Korbobo1983)。我们的实验结果表明,高山植物短管兔儿草有较强的光合能力。在高山地区,低 CO_2 分压是限制植物光合作用的重要因子,但植物叶片发达的通气、贮气组织有利于 CO_2 的供应,弥补了 CO_2 供应相对不足的缺憾。另外,叶片发达的栅栏组织及丰富的叶绿体是保证高光合能力的结构基础。前人的研究及我们的实验结果均表明,高山植物光合效率较低。许大全(1988)认为,低气压可能是导致高原植物光合效率低的原因。我们认为高原的强辐射塑造了高山植物特殊的同化组织结构,表现为典型的阳生植物的特点,这种结构特点可能决定了高山植物的低光合效率,同时也可能是对强辐射、低气压高山环境长期适应的结果。

短管兔儿草在温室自然光照环境下生长,光合速率、Hill反应活性、光饱和点、光补偿点均较培养室弱光环境下生长的高。而培养室内生长的短管兔儿草,光合表观量子产额又高于温室内生长的。Boardman(1977)在一篇综述中曾总结到,植物生长期的高光照强度使光合电子传递能力增强,阳生植物在饱和光强下光合速率较阴生植物高得多,而且阳生植物光补偿点也高;阴生植物则表现出高的量子效率。Greer等(1988)的研究表明,生长期间的光照强度愈低,*Actinidia deliciosa*光合量子效率愈高。由此推断,植物生长期光照强度是影响光合特性的主要因素(张其德等,1988)。温室内光照强度高于培养室内的,在两种环境条件下生长的短管兔儿草所形成的光合特性的差异,是由于光照强度起主要作用。同时,这一结果也从一个侧面解释了高山植物光合效率较低的原因。

已有研究证明,高山植物有很强的抵抗低温胁迫的能力(卢存福等,1998)。本文的实验结果表明,短管兔儿草能抵抗 $2\text{h} - 13$ 骤然的低温胁迫,表现出较强的抗冻能力。在植物生长季节能抵御如此低的温度,这对一般的平原植物来说是难以想象的。另外,本文的研究结果还表明,高山植物短管兔耳草对光照下的低温胁迫较黑暗中低温胁迫敏感。据我们对中国科学院西北高原生物研究所海北高寒草甸定位站气象资料分析结果表明,在达坂山顶,7月份夜间最低温度可达 $-5 \sim -6$;但白天,特别是阳光照射下最低温度在 0 左右。由此推知短管兔耳草对夜间冰冻低温胁迫可能已有明显的适应性,而对光照下的冰冻胁迫则较为敏感。近年来,光在低温胁迫中的作用已受到研究人员的注意(Strand和Öquist,1985;卢存福和贾桂英,1994)。耐寒的欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)幼苗经 -5 处理后,在低温强光下光合电子传递速率受到抑制的程度较低温弱光下大得多(Öquist等,1987)。这表明,低温胁迫对光合作用的抑制在光合机构运转时(即光照下)更强烈。这可能是叶绿体受低温胁迫时在光下更易产生 $\text{O}_2\cdot^-$,由此引发一系列自由基的产生;而在通常情况下自由基产生和清除处于平衡状态(方允中和李文杰,1989)。自由基水平的增高会造成膜脂过氧化,使叶绿体膜系统遭受损伤,引起叶绿素、类胡萝卜素的光氧化(Öquist等,1987),这必然导致光合反应中心的损伤,光合电子传递速率的降低以及光合磷酸化的解偶联。进一步研究零上($0 \sim 5$)、零下($-5 \sim -6$)低温及不同光照强度

对短管兔耳草光合作用的影响,有益于揭示光抑制及光氧化的机理。高山植物短管兔耳草可能存在特殊的抗冻机制,在分子水平上探讨其抗冻机理,克隆特异的抗冻基因,将是极有意义的。

参 考 文 献

- 王为一,1985. 青藏高原高山植物结构特异性研究. 高原生物学集刊, 4:20~30
- 方允中,李文杰,1989. 自由基与酶(基础理论及在生物学和医学中的应用). 北京,科学出版社,181~188
- 叶济宇,钱月琴,1985. 植物生理学实验指导. 上海,上海科学技术出版社,104~107
- 卢存福,贾桂英,1994. 低温胁迫下光对苜蓿光合作用的影响. 中国草地, 5:15~18
- 卢存福,简令成,匡廷云,1998. 高山植物的抗寒抗冻特性. 植物学通报, 15(3):17~22
- 李德耀,邱国雄,沈允钢,1982. 氧电极法测定叶片光合作用技术探讨. 植物生理学通讯, 5:23~25
- 许大全,1988. 光合作用效率. 植物生理学通讯, 5:1~7
- 张其德,唐崇钦,林世青,姜世庆,匡廷云,1988. 光强度对小麦幼苗光合特性的影响. 植物学报, 30(5):508~514
- Adams W, Nishida K, Osmond C B, 1986. Quantum yield of CAM plants measured by photosynthetic O₂ exchange. *Plant Physiol*, 81: 297~300
- Boardman N K, 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Plant Physiol*, 28:355~377
- Cao S T, Chen S S, Li M Q, 1988. Rapid post-illumination oxygen consumption and its relation to photorespiration. *Acta phytophysiological Sin*, 14(4):313~317
- Greer D H, Laing W A, Kipnis T, 1988. Photoinhibition of photosynthesis in intact Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) leaves: effect of temperature. *Planta*, 174:152~158
- Ledig F T, Korbobo D R, 1983. Adaptation of Sugar Maple populations along altitudinal gradients: photosynthesis, respiration, and specific leaf weight. *Amer J Bot*, 70(2):256~265
- Öquist G, Greer S H, Öree E, 1987. Light stress at low temperature. *Topics In Photosynthesis Vol 9 Elsevier, Amsterdam*, 67~87
- Strand M, Öquist G, 1985. Inhibition of photosynthesis by freezing temperatures and light levels in cold-acclimated seedlings of Scots Pine (*Pinus sylvestris*) L. Effect on the light-limited and light-saturated rates of CO₂ assimilation. *Physiol Plant*, 64:425~423

欢迎订阅《林业科学》

《林业科学》是首届国家期刊奖获奖期刊,是中国林学会主办的、代表中国林业科学最高水平的学术刊物,创刊于1955年。主要刊登林业领域的最新科学研究成果,反映国家林业建设重点和热点,促进林业科技、教育、生产发展及国内外学术交流。内容包括森林培育、森林生态、林木遗传育种、森林保护、森林经理、野生动物保持与利用、园林植物与观赏园艺、经济林、水土保持与荒漠化治理、林业可持续发展、森林工程、木材科学与技术、林产化学加工工程、林业经济及林业宏观决策研究等方面,以学术论文、研究报告、综合评述为主,还有学术问题讨论、研究简报、科技应用、科技动态、新书评介等栏目。

作为我国创办最早的基础性、高科技林业科技重点核心期刊,《林业科学》在国内外享有很高的声誉,多年来一直受到广大读者的重视和欢迎。1999年起,《林业科学》改为大16开本(210mm×285mm),每期148页,定价17.5元,全年105元。

本刊邮发代号82-6,全国各地邮局均可订阅。

国外总发行为中国国际图书贸易总公司(北京399信箱),国外邮发代号BM44。

如有需要近年过刊的读者可与本编辑部联系购买。

《林业科学》编辑部地址:北京万寿山后中国林学会 邮编:100091

电话:(010)62889820 E-mail:linyinx@csf.forestry.ac.cn