园 艺 学 报 2002, 29 (1): 30~34
Acta Horticulturae Sinica

CO_2 加富对黄瓜叶片显微和亚显微结构的影响

魏 珉 邢禹贤 王秀峰 马 红
(山东农业大学园艺学院, 泰安 271018)

摘 要: 以黄瓜为试材, 研究 CO_2 加富对叶片显微和亚显微结构的影响。结果表明: CO_2 加富后黄瓜叶片栅栏组织厚度、表皮厚度和叶片厚度增加, 栅栏组织占叶片总厚度的比例上升, 栅栏细胞变长, 排列更加整齐紧密; 叶片叶绿体数目和大小、淀粉粒数目和大小、基粒及其片层数均增加, 单位叶绿体含淀粉粒数上升, 但叶绿体超微结构未见明显伤害。上午以不同浓度 CO_2 加富 3 h 效应较小, 上、下午各以 1 100±100 μL·L^{-1} CO_2 加富 3 h 效果显著。

关键词: 黄瓜; CO_2 加富; 叶片结构
中图分类号: S 642.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 01-0030-05

CO_2 加富提高作物光合速率的同时, 叶片结构常常对高浓度 CO_2 环境产生适应性变化。研究表明, 提高 CO_2 浓度引起菜豆[1]、大豆[2,3]叶片厚度增加, 但机理不同。Vu 等发现 CO_2 加富大豆, 每个叶绿体中淀粉粒数和体积仅稍有增加, 对叶绿体超微结构无明显影响[3]。左宝玉等报道, CO_2 倍增条件下谷子和紫花苜蓿细胞内淀粉粒大小、数目均明显增加, 并影响叶绿体基粒的大小、分布和片层数[4]。由此可见, 不同作物种类和品种、不同试验条件下叶片结构对 CO_2 环境适应的复杂性。本试验以黄瓜幼苗为试材, 研究 CO_2 加富后叶片显微和亚显微结构的变化, 为叶片同化功能和黄瓜增产机理的研究奠定基础。

1 材料与方法

试验于 1999 年 10~12 月在山东农业大学园艺试验站和校本部进行。10 月 7 日播种, 营养钵 (Ø 10 cm) 育苗, 营养土按园土和有机肥 3∶1 混合, 含有机质 1.45%, 速效 N 101.41 mg·kg^{-1}, 速效 P 302.49 mg·kg^{-1}, 速效 K 246.00 mg·kg^{-1}。子叶展平后 (10 月 16 日) 分别移入 4 个拱棚 (长 2.0 m, 宽 1.6 m, 高 1.0 m) 内处理。处理Ⅰ, 不加富 (对照); 处理Ⅱ, 上午加富, CO_2 浓度 700±100 μL·L^{-1}; 处理Ⅲ, 上午加富, CO_2 浓度 1 100±100 μL·L^{-1}; 处理Ⅳ, 上午、下午均加富, CO_2 浓度 1 100±100 μL·L^{-1}。每处理 60~80 株, 肥源为钢瓶液体 CO_2, 用 GXH-305 型红外线 CO_2 分析仪监测浓度变化。CO_2 加富时间上午 8:00 (8:30)~11:00 (11:30), 下午 1:30 (2:00)~4:30 (5:00)。11 月 16 日将拱棚转移至玻璃温室内继续处理。12 月 2 日每处理选择典型植株 3 株, 从茎尖下数第 3 叶上切取小块分别用 FAA 或戊二醛固定。试验期间 4 个拱棚的一般管理和温光条件相同。10 月 16 日至 11 月 16 日拱棚内的最高/最低气温为 20~35 ℃/8~16 ℃, 中午 11 时平均光照强度 616.2 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 下午 2 时平均光照强度 465.4 μmol·m^{-2}·s^{-1}; 11 月 17 日至 12 月 2 日最高/最低气温为 24~30 ℃/12~17 ℃, 中午 11 时平均光照强度 306.3 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 下午 2 时平均光照强度 219.2 μmol·m^{-2}·s^{-1}。1999 年 2~3 月在校本部玻璃温室进行预备试验, 仅设处理 I~III, 结果基本同本次试验。

显微结构观测: 沿叶片中部主脉两侧切取 4~5 mm×2~3 mm 长条, 先用 FAA 固定保存, 后转入 3% 戊二醛缓冲液中, 制作 GMA 半薄切片。具体步骤是: 3% 戊二醛缓冲液固定 6~12 h → 蒸馏水清洗 2 次 (每次 3 h) → 酒精梯度脱水 → GMA 预渗液处理 2 次 → GMA 包埋 → 30 ℃聚合 → LX-75 型切片机切片 → 染色 → 中性树胶封片。在 Olympus AH-Ⅱ万用显微镜 (日本制造) 下观测照相。每处理观测 20~

收稿日期: 2001-05-24; 修回日期: 2001-10-09
基金项目: 山东省教育厅基金资助项目 (J99104)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

30 个视野, 计算平均值。

亚显微结构观测: 在叶片中部主脉两侧切取大小 1~ 2 mm 见方小块, 用 4% 戊二醛前固定, pH 7.2 磷酸缓冲液冲洗, 1% 锇酸后固定, 梯度乙醇– 丙醇脱水, Eporr-812 环氧树脂包埋, LKB-5 型超薄切片机切片, 醋酸铀– 柠檬酸铅双重染色, JEM-1200EX 型透射电镜观察、测量并照相。每处理观测 20~ 30 个视野, 取平均值。

2　结果与分析

2.1　显微结构

2.1.1　*叶片厚度*　CO_2 加富引起黄瓜叶片厚度增加 (表 1)。与对照相比, 上午 CO_2 700±100 μL·L^{-1} 和 CO_2 1 100±100 μL·L^{-1} 加富处理黄瓜叶片的厚度分别增加 0.64% 和 3.46%, 全天 1 100±100 μL·L^{-1} CO_2 加富叶片厚度增加 12.77%, 前二者与对照未达显著差异, 后者呈极显著差异, 说明与上午以不同浓度 CO_2 加富 3 h 相比, 全天以 CO_2 1 100±100 μL·L^{-1} 加富 6 h 效果更明显。

叶片厚度取决于叶肉和表皮的厚度, 而构成叶肉的组织除了栅栏组织外还有海绵组织。由表 1 看出, CO_2 加富黄瓜叶片栅栏组织和表皮厚度同时增加, 栅栏组织厚度与叶片总厚度的比值因 CO_2 加富略有上升。海绵组织厚度在不同加富浓度间差异不显著。

表 1　CO_2 加富处理黄瓜叶片厚度的变化

Table 1　Changes in leaf thickness of cucumber with CO_2 enrichment

CO_2 浓度 CO_2 concentration (μL·L^{-1})	时　间 Time	叶片厚度 Leaf thickness (μm)	表皮厚度 Epidermis thickness (μm)	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness (μm)	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness (μm)	栅栏组织厚度/叶片厚度 PT/LT
对照 Control		150.58 bB	23.24 cB	44.65 cB	83.90 bA	0.30
700±100	上午 AM	151.54 bB	25.54 bA B	47.31 bB	80.13 bA	0.31
1 100±100	上午 AM	155.78 bB	25.73 bA B	47.36 bB	82.92 bA	0.31
1 100±100	上午+ 下午 AM+ PM	169.54 aA	26.84 aA	54.56 aA	88.35 aA	0.32

2.1.2　*细胞大小*　表 2 表明, CO_2 加富使黄瓜叶片栅栏组织细胞长度增加, 但是上午 700±100 μL·L^{-1} 和 1 100±100 μL·L^{-1} 处理细胞长度分别增加 5.5% 和 5.7%, 与对照差异不显著; 全天 CO_2 加富者增加 26.6%, 差异极显著。栅栏组织细胞宽度在不同处理间无显著差异。位于栅栏组织细胞下的第 1 层海绵细胞的长度和宽度也呈现类似的变化特征。CO_2 加富使叶片表皮细胞宽度 (厚度) 增加, 不同加富浓度间表皮细胞长度变化不明显。全天 1 100±100 μL·L^{-1} CO_2 加富使叶片叶肉细胞和表皮细胞在横切面上扩展明显, 细胞体积增大。

表 2　CO_2 加富对黄瓜叶片细胞大小的影响

Table 2　Effects of CO_2 enrichment on the size of leaf cells in cucumber　(μm)

CO_2 浓度 CO_2 concentration (μL·L^{-1})	时　间 Time	栅栏细胞 Palisade cell		海绵细胞 Spongy cell		上表皮细胞 Upper epidermis cell		下表皮细胞 Lower epidermis cell	
		长　度 Length	宽　度 Width	长　度 Length	宽　度 Width	长　度 Length	宽　度 Width	长　度 Length	宽　度 Width
对照 Control		43.76 bB	12.61 aA	24.44 bB	18.54 aA	21.61 bB	13.53 bB	15.93 bAB	9.83 bB
700±100	上午 AM	46.16 bB	13.09 aA	24.45 bB	19.05 aA	21.23 bB	14.93 aA B	15.69 bA	10.73 abAB
1 100±100	上午 AM	46.26 bB	12.86 aA	25.97 bB	18.85 aA	21.72 bB	15.03 aA B	15.82 bAB	10.99 aAB
1 100±100	上午+ 下午 AM+ PM	55.39 aA	13.09 aA	29.92 aA	19.14 aA	24.30 aA	15.43 aA	17.14 aA	11.64 aA

在叶片横切面上, 沿表皮平行方向, 统计 125 μm 范围内栅栏细胞和第 1 层海绵细胞的数目, 结果见图 1。1 100±100 μL·L^{-1} CO_2 加富使叶片细胞数目显著增加, 这说明 CO_2 加富不仅使栅栏细胞排列更加整齐、紧密, 而且促进海绵细胞排列由无序向有序转变 (图版, A~ D)。

2.2　亚显微结构

2.2.1　*叶绿体和淀粉粒*　由表 3 可知, CO_2 加富条件下, 栅栏细胞内叶绿体数目增加, 体积增大。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

上午 700 ±100 μL·L^{-1}和 1 100 ±100 μL·L^{-1} CO_2加富处理使每个细胞含叶绿体数分别比对照增加 16.90% 和 27.46%，全天加富增加 25.64%；上午以不同浓度 CO_2 加富者叶绿体体积增加较小，全天加富者增加显著，其长度和宽度分别比对照增加 8.36% 和 26.49%。以上结果说明 CO_2 加富促进黄瓜叶绿体的形成和发育。

CO_2 加富使叶片栅栏细胞内淀粉粒数目增多，体积增大（表 3，图版，E~H），说明其合成并积累了更多的碳水化合物。对照平均每个叶肉细胞含 9.14 个淀粉粒，每个叶绿体不到 1 个，且体积较小；上午 700 ±100 μL·L^{-1}和 1 100 ±100 μL·L^{-1} CO_2 加富处理使每个细胞内淀粉粒数分别增加到 16.22 个和 23.72 个，平均每叶绿体含 1~2 个；全天 CO_2 加富黄瓜叶肉细胞内淀粉粒数目进一步增加，每个叶绿体含 2~3 个，且体积显著增大。

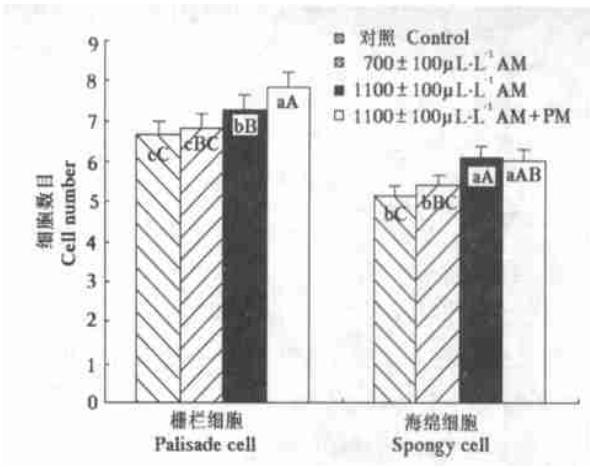


图 1 CO_2 加富对黄瓜叶片栅栏、海绵细胞数目的影响（125 μm 叶片长度）

Fig. 1 Effects of CO_2 enrichment on the nubmer of palisade and spongy cells in 125 μm length of cucumber leaves

表 3 CO_2 加富处理黄瓜叶片叶绿体、淀粉粒数目及大小变化

Table 3 Number and size of chloroplast and starch grain in leaves of cucumber with CO_2 enrichment

CO_2 浓度 CO_2 concentration (μL·L^{-1})	时间 Time	叶绿体数/叶肉细胞 Chloroplast number / cell	叶绿体 Chloroplast 长度 Length (μm)	叶绿体 Chloroplast 宽度 Width (μm)	淀粉粒数/叶肉细胞 Starch grain number / cell	淀粉粒 Starch grain 长度 Length (μm)	淀粉粒 Starch grain 宽度 Width (μm)
对照 Control		10.92 cB	5.61 bA	1.85 bA	9.14 dB	0.59 cC	0.23 cC
700±100	上午 AM	12.77 bA	6.17 abA	1.94 bA	16.22 cB	1.70 bB	0.88 bB
1 100±100	上午 AM	13.92 aA	5.86 abA	1.90 bA	23.72 bA	1.86 bB	0.87 bB
1 100±100	上午+下午 AM+PM	13.72 aA	6.64 aA	2.34 aA	29.00 aA	2.76 aA	1.54 aA

2.2.2 *基粒和片层* CO_2 加富不仅影响叶绿体大小和数目，而且影响其结构。加富处理叶片叶绿体内基粒数目增加（未达显著差异水平）；片层数增加，基粒明显变厚，说明类囊体垛叠程度高，含多个片层的基粒增多（表 4）。基粒片层密度随 CO_2 加富浓度增加和时间延长而降低，但这是由于片层厚度的增加还是片层间隙的增大，尚需探讨。

表 4 CO_2 加富对黄瓜叶绿体基粒及其片层的影响

Table 4 Effects of CO_2 enrichment on grana and lamellae of chloroplast in cucumber

CO_2 浓度 CO_2 concentration (μL·L^{-1})	时间 Time	基粒数/叶绿体 Grana number/chloroplast	基粒厚度 Grana thickness (μm)	片层数/基粒 Lamella number/grana	片层密度 Lamella number/μm
对照 Control		15.55 aA	0.135 bB	10.39 bB	76.96 cC
700±100	上午 AM	15.64 aA	0.163 aAB	12.06 abAB	73.96 bB
1 100±100	上午 AM	16.36 aA	0.183 aA	13.22 aA	72.25 aA
1 100±100	上午+下午 AM+PM	17.18 aA	0.173 aAB	12.33 aAB	71.29 aA

3 讨论

CO_2 加富引起黄瓜叶片厚度增加，这与对菜豆、大豆的研究结果相同，但叶厚增加的原因不同。Radoglou 等试验表明，菜豆叶片厚度增加主要由于叶肉，尤其是海绵薄壁组织的变化所致，栅栏组织与海绵组织的比值并不改变，叶肉细胞体积变大，尤其在横切面上扩展明显，而栅栏细胞层数、表皮细胞密度、气孔密度和气孔指数不受影响[1]。大豆叶片厚度增加源于栅栏细胞层的良好发育和细胞数目的增加[3]。在 CO_2 倍增环境中生长的大豆，叶片下表面覆盖大量的星状表面角质蜡层，叶肉因增加

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

了一层栅栏组织而明显变厚, 气孔密度下降[2]。本试验中, CO_2 加富黄瓜叶片增厚则是叶肉和表皮厚度同时增加的结果, 栅栏细胞层数不变但明显伸长, 栅栏组织占叶片厚度的比例上升, 细胞排列更加整齐紧密, 与栅栏组织相接的海绵组织细胞排列也趋于有序。由此看出, 不同作物叶片结构对提高 CO_2 浓度的适应性机制不同, 细胞分裂和细胞扩张均可能成为引起变化的原因。提高 CO_2 浓度对不同作物叶片叶绿体超微结构的影响也不一样。CO_2 加富黄瓜叶肉细胞内叶绿体、淀粉粒数目增加, 体积增大, 基粒数和片层数增加, 但每个叶绿体所含淀粉粒数很少超过 3 个, 未影响叶绿体正常的超微结构。CO_2 加富番茄叶片中淀粉粒大小、数目增加, 类囊体变形也仅限于韧皮部细胞中的极少数叶绿体[5]。但是, CO_2 倍增条件下谷子和紫花苜蓿中淀粉粒大小、数目均增加, 且淀粉粒体积和数量影响叶绿体基粒的大小、分布和片层数[4]。

根据本研究结果, CO_2 加富促进黄瓜叶片和叶绿体的发育。前人研究表明, 苜蓿叶片光合速率取决于叶肉和栅栏组织厚度[6]; 大豆叶片叶绿体基粒片层数与光合速率正相关[7]。基粒片层垛叠意味着捕获光能机构的高度密集, 同时作为酶的排列支架, 有利于形成一个长的代谢传送带, 促进光能的吸收传递和转换。因此, CO_2 加富条件下黄瓜叶片显微和亚显微结构的变化可能是对高浓度 CO_2 的适应, 以提高对光能和环境 CO_2 的吸收利用能力; 另一方面, 高 CO_2 浓度下黄瓜叶片的光合速率提高, 制造和积累更多的碳水化合物, 为叶片结构发育奠定了基础。对此尚需进一步探讨。虽然上午以不同浓度 CO_2 加富对黄瓜叶片结构都产生了一定影响, 但部分指标与对照并无显著差异, 而全天 CO_2 加富叶片结构变化明显, 这说明延长 CO_2 加富时间作用更大。

参考文献:

1 Radoglou K M, Jarvis P G. The effects of CO_2 enrichment and nutrient supply on growth morphology and anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. Ann. Bot., 1992, 70: 245~ 256

2 林金星, 胡玉熹. 大豆叶片结构对 CO_2 浓度升高的反应. 植物学报, 1996, 38 (1): 31~ 34

3 Vu J C V, Allen L H Jr, Bowes G. Leaf ultrastructure, carbohydrates and protein of soybeans grown under CO_2 enrichment. Environ. Exp. Bot., 1989, 29 (2): 141~ 147

4 左宝玉, 姜桂珍, 白克智, 等. CO_2 浓度倍增对谷子和紫花苜蓿叶绿体超微结构的效应. 植物学报, 1996, 38 (1): 72~ 76

5 Yelle S, Beeson R C Jr, Trudel M J, et al. Acclimation of two tomato species to high atmospheric CO_2. Plant Physiol., 1989, 90: 1465~ 1472

6 Delayney R H. Morphological and anatomical features of alfalfa leaves related to CO_2 exchange. Crop Sci., 1974, 14: 444~ 447

7 许守民, 苗以农. 大豆不同生殖生长期不同冠层光合活性差异与叶片结构关系探讨. 作物学报, 1992, 18 (3): 191~ 195

Effects of CO_2 Enrichment on the Microstructure and Ultrastructure of Leaves in Cucumber

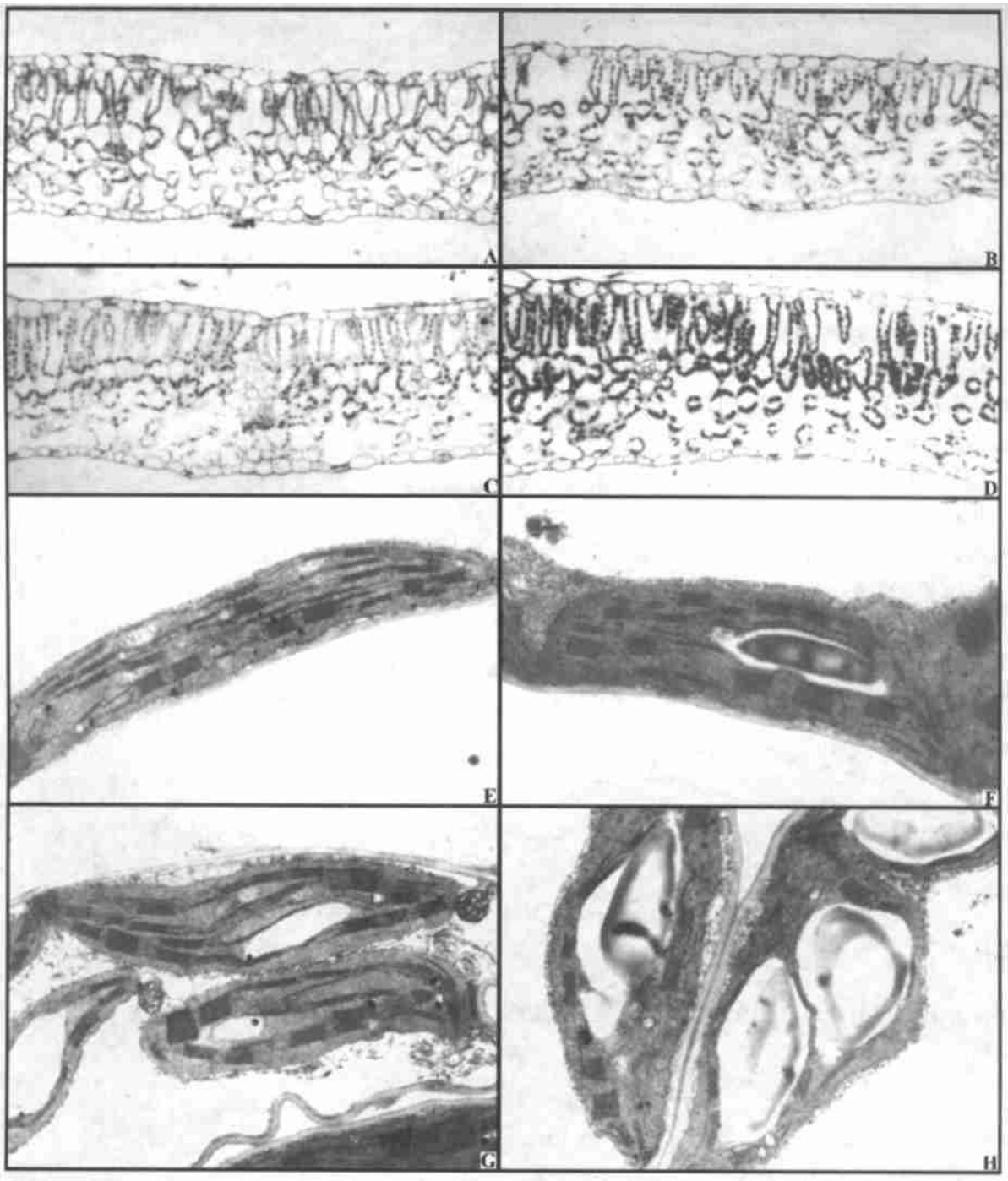
Wei Min, Xing Yuxian, Wang Xiufeng, and Ma Hong

(College of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018)

Abstract: The microstructure and ultrastructure of leaves in cucumber with CO_2 enrichment were investigated. It showed that the thickness of palisade tissue, epidermis and leaf increased simultaneously in CO_2-enriched leaves, and the ratio of palisade tissue to leaf thickness went up slightly. Longer and more tightly arranged palisade cells were observed in leaves with CO_2 enrichment. Not only the number and size of chloroplast and starch grain, but also the number of grana and lamella increased as a result of CO_2 enrichment. No obvious chloroplast deterioration and thylakoid deformation were found in CO_2-enriched leaves. Enrichment at different CO_2 concentrations for three hours in morning was not very effective, but enrichment for six hours at 1 100±100 $\mu L \cdot L^{-1}$ everyday produced most significant effects.

Key words: Cucumber; CO_2 enrichment; Leaf structrue

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



图版说明 A~D 叶片显微结构（150×）；E~H 叶片超微结构（10 000×）。A、E，对照；B、F，CO_2 700±100 μL·L^{-1}，上午加富；C、G，CO_2 1 100±100 μL·L^{-1}，上午加富；D、H，CO_2 1 100±100 μL·L^{-1}，上午+ 下午加富。

Explanation of plate A- D leaf microstructure (150×); E- H leaf ultrastructure (10 000×). A, E, CK; B, F, CO_2 700±100 μL·L^{-1} AM; C, G, CO_2 1 100±100 μL·L^{-1} AM; D, H, CO_2 1 100±100 μL·L^{-1} AM+ PM.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net