

青海高原不同海拔珠芽蓼叶绿体超微结构的比较*

魏 捷 余 辉 匡廷云

(中国科学院植物研究所光合作用研究中心, 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 用电子显微镜技术观察研究了生长于青海高原 3 个海拔地带(2500 m、3200 m、3980 m)的珠芽蓼(*Polygonum viviparum* L.)叶绿体的超微结构, 发现随着海拔的升高, 叶绿体结构呈现显著的变化趋势。2500 m 和 3200 m 处叶绿体形状规则, 分布在细胞边缘, 3980 m 处叶绿体膨大变形, 且分布在整个细胞当中。海拔升高, 类囊体膜减少, 膜垛叠程度减小。不同海拔珠芽蓼叶绿体的类囊体膜结构差异较大, 特点显著。随海拔升高, 珠芽蓼叶绿体破坏程度增加, 主要表现为类囊体膜肿胀、类囊体膜溶解和叶绿体破裂。许多破裂的叶绿体中残留有发达的基粒和大而多的淀粉粒。珠芽蓼叶绿体的这些结构特征, 既是环境胁迫的结果, 又是植物适应性的表现。

关键词 青海高原 珠芽蓼 叶绿体超微结构 类囊体膜

ULTRASTRUCTURE OF POLYGONUM VIVIPARUM L. GROWN AT DIFFERENT ELEVATIONS ON QINGHAI PLATEAU

WEI Jie YU Hui and KUANG Ting-Yun

(Photosynthesis Research Center, 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 Variation in the ultrastructure of leaves of *Polygonum viviparum* L. grown at three different elevations (2500 m, 3200 m and 3980 m) was observed with the aid of an electron microscope. These observations revealed strong differences in chloroplasts ultrastructure between plants growing at different altitudes. A tendency was observed for chloroplasts to increasingly concentrate at the center of cells as elevation increases, presumably a form of protection from intensifying irradiation. The number of thylakoids per chloroplast and the degree of thylakoid stacking were both also observed to decrease with increasing elevation. This probably represents a strategy to reduce excess light absorption. Thylakoid swellings, a result of environmental stress, were observed in the chloroplasts of leaves from all three elevation levels. A positive association was observed between increasing elevation and observed levels of chloroplast deterioration. Appressed membranes in grana were observed in the residual thylakoid pieces in these damaged chloroplasts. It is suggested that chloroplasts with greater membrane stacking were more susceptible to damage from high irradiation.

Key words Qinghai plateau, *Polygonum viviparum*, Chloroplast ultrastructure, Thylakoid membrane

高山环境具有强日辐射、低温、低气压等不利于植物生长的生态条件。高山环境下生长的植物的一些光合特性, 如光饱和点和光补偿点较高, 类胡萝卜

素含量增加, 光合作用最适温度较低, 表观光合速率较低而最大光合速率较高等已有研究(Ben et al., 1992; 卢存福等, 1995a; 1995b; 魏捷等, 1998)。而高

* 收稿日期: 1998-11-25 修订日期: 1999-06-01

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 39570129)和国家重点基础研究发展计划项目资助

感谢中国科学院植物所卢存福博士、贲桂霞博士和中国科学院生物物理研究所电镜室鲁唔崎、及惠芬老师的热情帮助和指导。

山环境下植物光合器官——叶绿体的超微结构特性还未见报道。珠芽蓼为多年生草本, 分布于海拔2300~4000 m 的潮湿草地、河滩、林缘、灌丛等处。本文通过不同海拔珠芽蓼叶绿体超微结构的比较研究, 探讨了环境因素和植物叶绿体结构特异性的关系。

1 材料和方法

1.1 采样地点

珠芽蓼(*Polygonum viviparum* L.)叶片是在其生长季节(6~7月)分别采自青海高原3个海拔地区: 1)青海省大通县老爷山山脚林缘开阔草地地段2500 m 处。那里年平均气温5.6℃, 1月平均气温-8.6℃, 7月平均气温17.2℃, 绝对最低气温-21.9℃, 绝对最高气温32.4℃; 属于森林温性草原地带。2)青海省门源县境内中国科学院海北高寒草甸生态系统定位研究站附近河滩区草甸地带3200 m 处; 那里年平均气温0.6℃, 1月平均气温-13.0℃, 7月平均气温12.3℃, 绝对最低气温-31.5℃, 绝对最高气温27.5℃。3)青海省门源县境内大坂山山峰3980 m 处; 此地与3200 m 处采样地同样属于高寒灌丛、高寒草甸地区。但因其为海拔较高的山顶, 常有高空急流经过, 所以常刮大风, 并伴随大风或冰雹, 极端寒冷。

1.2 样品采集和电镜切片制作及观察

采样时各自的生长期为开花后期。切取各植株叶片中下部位的组织片(去掉中脉及边缘部分), 切成0.5 mm × 0.5 mm 的小块, 迅速投入5% 戊二醛缓冲液(用pH 7.2的Sodium-Cacodylate配成)中室温下固定3 h, 接着用Sodium-Cacodylate缓冲液(pH 7.2)洗3次, 每次约0.5 h; 然后用pH 7.2的Sodium-Cacodylate缓冲液配制的1% 银酸固定液在冰箱中固定过夜; 随后用pH 7.2的Sodium-Cacodylate缓冲液洗涤3次, 再用重蒸水洗3次, 每次约0.5 h, 接着用系列乙醇脱水, 丙酮过夜, 环氧树脂Epson 812包埋, 用LKB-8800型超薄切片机切片, 切片经醋酸双氧-柠檬铅双染色后, 在JEM-100 CX型透射电镜下观察并照相。

2 结果

2.1 细胞中叶绿体分布及其形状的变化

1) 海拔升高, 叶绿体有向细胞中央靠拢的趋势。比较不同海拔珠芽蓼叶肉细胞中叶绿体的分布可以看出, 2500 m 和3200 m 处珠芽蓼叶绿体主要

排列于细胞的边缘(图版I,A); 3980 m 处叶绿体向细胞中央靠拢, 有些细胞中叶绿体占据了细胞中央的位置(图版I,C,D)。

2) 海拔升高, 叶绿体变得短而宽, 且有向细胞中央膨大突起的趋势。2500 m 和3200 m 处珠芽蓼叶肉细胞中以规则的长椭圆形叶绿体为主(图版I,A,B), 而3980 m 处珠芽蓼叶绿体多为短卵圆形, 且许多叶绿体扭曲变形, 向细胞中央膨大突起(图版I,C,D)。

2.2 类囊体膜垛叠的变化

由图版II图E、G、H可以看出, 海拔升高, 类囊体膜含量明显减少, 膜的垛叠程度减小。2500 m 处珠芽蓼叶绿体中类囊体膜较发达, 基粒多且基粒片层发达(图版II,E,F), 基粒数多为11~13, 片层多为4~13, 有的片层可多达17。3200 m 处珠芽蓼叶绿体中, 虽然类囊体膜遍布整个叶绿体, 基粒数较多, 基粒的片层较长, 但片层数很少, 大多为2~3个片层(图版II,G)。3980 m 处珠芽蓼叶绿体中类囊体膜总量不多, 虽基粒垛叠紧密, 但基粒数少(图版II,H), 有的叶绿体中类囊体膜无明显基粒结构(图版I,D)。2500 m 和3200 m 处珠芽蓼叶绿体中类囊体膜分布均匀, 排列规则(图版II,E,G)。3980 m 处的珠芽蓼叶绿体中, 类囊体膜多集中在局部区域, 排列松散(图版I,C; 图版II,H)。

2.3 叶绿体损伤变形程度的比较

随海拔升高, 珠芽蓼细胞中破裂的叶绿体数量增多, 类囊体膜溶解现象增加, 叶绿体结构破坏的程度增大, 以3980 m 处的最为显著。2500 m 和3200 m 处的珠芽蓼叶绿体中基质类囊体膜肿胀显著, 3200 m 处珠芽蓼叶绿体的类囊体膜的肿胀程度明显高于2500 m 处的(图版II,E,G)。3980 m 处的珠芽蓼, 有的叶绿体中无类囊体膜肿胀现象(图版I,C; 图版II,H), 有的叶绿体中观察到类囊体膜肿胀, 但不显著(图版I,D)。虽然3980 m 处珠芽蓼叶绿体的类囊体膜肿胀现象不显著, 但其类囊体膜极不规则, 叶绿体变形和破裂现象远较2500 m 和3200 m 处的严重(图版I,C,D 仅示3980 m 处珠芽蓼叶绿体结构较为完整的电镜照片)。

在2500 m 和3200 m 处的珠芽蓼叶绿体中, 发现许多破裂的叶绿体中残留的淀粉粒多而大(图版II,I), 基粒非常发达, 而类囊体膜无肿胀现象(图版II,I,J)。

3 讨论

已有研究表明, 不同胁迫因子, 如水、温度、光强

等都会对植物叶绿体超微结构产生影响, 在胁迫条件下, 植物叶绿体会发生扭曲变形、膨大、类囊体膜系统破裂、类囊体膜肿胀等不同变化 (Taylor & Craig, 1971; Wise et al., 1983; 贾恢先等, 1990; 王邦锡等, 1992)。长期生长在高山严酷自然环境下的植物, 同时受到多种不利环境因素的胁迫作用, 其叶绿体的发育和形成必然会受到影响, 而相应地产生一些结构特征。

本文中观察到 3980 m 处珠芽蓼叶绿体严重变形, 并占据细胞中央位置, 有可能是因为高山环境中低温、强辐射等胁迫因子改变了植物细胞渗透势的结果, 也很有可能是胁迫环境影响了植物细胞的发育, 从而影响到叶绿体的发育所造成的。另外, 叶绿体向细胞中央移动也是植物减少叶绿体受强太阳辐射伤害的途径之一。

低温、高光强下生长的植物, 其叶绿体中类囊体膜减少, 膜的垛叠程度下降 (Mawson & Cummins, 1991; Anderson & Aro, 1994)。高山环境中, 高光强和低温这两个条件俱存, 且随海拔升高日辐射增强, 气温降低。珠芽蓼叶绿体中类囊体膜垛叠程度随海拔升高而减小。这可能是高光强使叶绿体中LHC II (光系统II捕光天线色素复合物) 减少所致, 以避免捕获过多光能而对叶绿体造成伤害。另一方面低温也有可能影响类囊体膜的膜脂组成而使类囊体膜的垛叠程度下降。

研究表明, 在水、盐渍、低温、强光等胁迫因子作用下, 叶绿体类囊体膜出现肿胀现象 (Taylor & Craig, 1971; Wise et al., 1983; Wise & Naylor, 1987; 贾恢先等, 1990; 王邦锡等, 1992)。珠芽蓼叶绿体中也发现有类囊体膜肿胀现象, 表明高山环境对珠芽蓼叶绿体已有一定程度的胁迫作用。3980 m 处珠芽蓼叶绿体中类囊体肿胀程度虽不如 2500 m 和 3200 m 处的。但 3980 m 处珠芽蓼叶绿体的形状和排列极不规则, 叶绿体膨大变形、类囊体膜溶解和叶绿体破裂的程度远远高于其它两个海拔高度, 说明叶绿体已受到严重的胁迫作用。3980 m 处大坂山山顶常年有云雾缭绕, 总的日照时数少于 3200 m 处, 但瞬时日照强度很高 (魏捷等, 1998)。加上大坂山顶常有的大风、冰雹和雨雪的低温气候, 使叶绿体更易受到破坏。

观察中还发现, 基粒发达、类囊体膜不肿胀的叶绿体可能更易破裂 (图版 II, IJ)。基粒发达的叶绿体可能对强光更敏感, 更易受到光破坏, 这种现象可能和高山环境中的强日辐射有关。至于类囊体膜肿

胀对植物光合作用的影响, 以及同植物抗性的关系; 低温如何对类囊体膜垛叠程度产生影响; 破裂叶绿体中淀粉粒较多, 是淀粉粒积累过多损伤了类囊体膜系, 还是类囊体膜结构的变化使淀粉粒的转运受阻, 这些都需要做进一步的研究。

珠芽蓼叶绿体超微结构随海拔升高的变化特性, 既反映出了植物对高山环境的适应特征, 又反映出高山环境对植物的胁迫作用。

参 考 文 献

- Anderson, J. M. & E. Aro. 1994. Grana stacking and protection of Photosystem II in thylakoid membranes of higher plant leaves under sustained high irradiance: an hypothesis. *Photosynthesis Research*, **41**: 315~ 526.
- Ben, G Y., C. L. Lu, F. Han & S. B. Shi. 1992. Characteristics of the photosynthesis in alpine plants on Q inghai plateau. In: Murata, N. ed. *Research in photosynthesis Vol 4*. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers. 173~ 176.
- Jia, H. X. (贾恢先) & M. R. Zhao (赵曼容). 1990. A study on the ultrastructure of chloroplasts of typical saline plants. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica* (西北植物学报), **10**(1): 70~ 72 (in Chinese).
- Lu, C. F. (卢存福) & G. Y. Ben (贲桂英). 1995a. Photosynthetic characteristics of plants at high altitudes. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **12**: (2) 38~ 42 (in Chinese).
- Lu, C. F. (卢存福), G. Y. Ben (贲桂英), F. Han (韩发) & S. B. Shi (师生波). 1995b. A comparative study of photosynthetic response of *Kobresia humilis* to different environment factors. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), **19**(1): 72~ 78 (in Chinese).
- Mawson, B. T. & W. R. Cummins. 1991. Low temperature acclimation of guard cell chloroplasts by the arctic plant *Saxifraga cernua* L. *Plant, Cell and Environment*, **14**: 569~ 576.
- Taylor, A. O. & A. S. Craig. 1971. Plants under climatic stress II. Low temperature, high light effects on chloroplast ultrastructure. *Plant Physiology*, **47**: 719~ 725.
- Wang, B. X. (王邦锡), J. X. He (何军贤) & J. C. Huang (黄久常). 1992. Non-stomatal factors causing photosynthetic rate decline induced by water stress. *Acta Phytophysiologia Sinica* (植物生理学报), **18**(1): 77~ 84. (in Chinese).
- Wei, J. (魏捷), G. Y. Ben (贲桂英), H. Yu (余辉), C. Q. Tang (唐崇钦) & T. Y. Kuang (匡廷云). 1998. Comparative study on photosynthetic characteristics of *Polygonum viviparum* grown at different elevations on Q inghai Plateau. *Acta Biophysica Sinica* (生物物理学报), **14**: 530~ 536 (in Chinese).
- Wise, R. R. & A. W. Naylor. 1987. Chilling-enhanced photooxidation. *Plant Physiology*, **83**: 272~ 277.
- Wise, R. R., J. R. McWilliam & A. W. Naylor. 1983. A comparative study of low-temperature-induced ultrastructural

alterations of three species with differing chilling sensitivities
Plant, Cell and Environment, 6: 525~ 535

图 版 说 明

Chl 叶绿体 G 基粒 S 淀粉粒

图版 I 珠芽蓼叶肉细胞的电镜照片。A. 海拔 2500 m。叶绿体形状规则, 排列整齐。B. 海拔 3200 m。叶绿体形状规则, 排列整齐, 只有少数叶绿体变形(箭头所示)。C. 海拔3980 m。叶绿体变形呈卵圆形; 叶绿体向细胞中央靠拢; 部分叶绿体破裂。D. 海拔 3980 m。叶绿体变形; 基粒结构不显著; 类囊体膜有肿胀现象(箭头所示)。A ~ D. $\times 5000$

图版 II 珠芽蓼叶绿体的电镜照片。E 海拔 2500 m。基粒片层较多; 间质类囊体膜肿胀明显(箭头)。F. 海拔 2500 m。示高倍放大类囊体膜肿胀的电镜照片(箭头示类囊体膜肿胀)。G 海拔 3200 m。基粒片层不发达, 多为 2~ 3 层; 类囊体膜肿胀程度很高, 分布在整个叶绿体中; 类囊体膜排列规则。H. 海拔 3980 m。基粒片层较发达, 但基粒数少, 整个叶绿体中类囊体膜分布较少; 类囊体膜无明显的肿胀现象。I~ J. 海拔 3200 m。已破裂的叶绿体; 大部分类囊体膜溶解; 残留有大而多的淀粉粒(I); 残存基粒的片层发达, 已溶解; 类囊体膜无肿胀现象。E~ J. $\times 13000$ (除 F. $\times 50000$)

Explanation of Plates

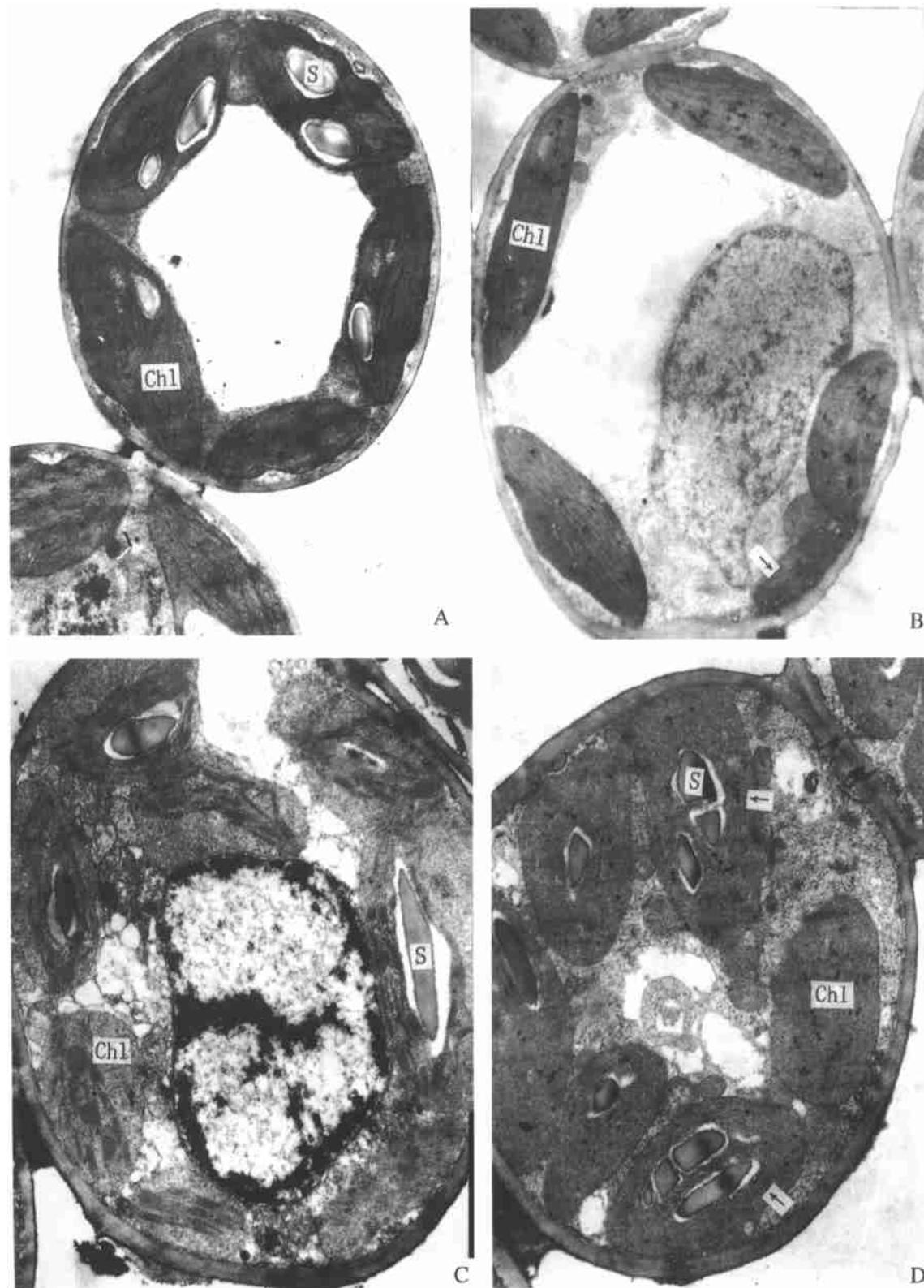
Chl Chloroplast G Granum S Starch grain

Plate I Electron micrographs of cells from *Polygonum viviparum* L. grown at different elevations Fig A. E1(Elevation) 2500 m.

Regular chloroplasts arranged along the wall of cells Fig B. E1 3200 m. Chloroplasts arranged along the wall of cells, with a few irregular chloroplasts (A row). Fig C. E1 3980 m. Dilated and contorted chloroplasts arranged in the cells everywhere. Chloroplasts partly broken Fig D. E1 3980m. Dilated and contorted chloroplasts arranged in the cells everywhere. Grana almost invisible Thylakoids slightly swollen (A rows). A ~ D. $\times 5000$

Plate II Electron micrographs of chloroplasts from *Polygonum viviparum* L. grown at different elevations Figs E~ F. E1 2500 m. Stromal thylakoids are pronounced swollen (A rows), with more and larger grana Fig G. E1 3200 m. The stromal thylakoids are pronounced swollen (A rows). Grana showed a dramatic reduction in stacking, such that most grana contained no more than three thylakoids Fig H. E1 3980 m. Number of grana decreased, even though the number of thylakoids per granum increased as compared to those at 3200 m. Figs I~ J. E1 3200 m. Remarkably, residual pieces from damaged chloroplasts showed more accumulated starch grains (Fig I) and many more and larger granal stacks (Figs I, J), as compared with those in most normal chloroplasts at 3200 m (Fig G). E~ J. $\times 13000$ (Except F. $\times 50000$)

责任编辑: 孙冬花



See explanation at the end of text