

二氧化碳倍增对春兰叶片结构的影响

汤访评¹, 赵宏波²

(1. 绍兴文理学院 生命科学学院, 浙江 绍兴 312000; 2. 浙江农林大学 农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 全球大气二氧化碳(CO₂)体积分数持续上升, 不仅对全球气候的变迁产生重大影响, 而且对植物的叶片形态结构也产生了不同程度的影响。为考察春兰 *Cymbidium goeringii* 叶片形态结构对二氧化碳体积分数倍增的响应, 在人工气候箱中分别以二氧化碳体积分数 $370 \pm 50 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $700 \pm 50 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 对盆栽春兰处理 2 个月。结果发现, 除叶长度与叶厚度没有显著变化外, 春兰叶片在二氧化碳体积分数倍增条件下其叶面积、叶绿体质量分数有显著增加, 但表皮细胞密度、气孔密度、气孔指数以及气孔开度却呈下降趋势, 而且差异显著。图 1 表 1 参 17

关键词: 植物学; 二氧化碳; 春兰; 叶片形态结构

中图分类号: Q944 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2010)04-0626-04

Leaf structure of *Cymbidium goeringii* with CO₂ concentration doubling

TANG Fang-ping¹, ZHAO Hong-bo²

(1. College of Life Science, University of Shaoxing, Shaoxing 312000, Zhejiang, China; 2. School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: An increase in atmospheric CO₂ concentration since the industrial revolution has influenced not only global climate change but also leaf morphology and structure of plants. The effects of CO₂ doubling on leaf morphology and structure of the *Cymbidium goeringii* leaf were investigated with CO₂ concentrations of 370 and 700 (± 50) $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ in an artificial climate chamber for two months. Results indicated no differences ($P>0.05$) for leaf length and leaf thickness. However, by doubling CO₂ concentration, leaf area and chloroplast content increased significantly ($P<0.01$), whereas epidermal cell density ($P<0.05$), stomatal density ($P<0.01$), stomatal index ($P<0.01$), and stomatal aperture decreased. [Ch, 1 fig. 1 tab. 17 ref.]

Key words: botany; CO₂; *Cymbidium goeringii*; leaf morphology and structure

全球大气二氧化碳(CO₂)正在以 $1.5 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{a}^{-1}$ 的速率递增, 预计到 21 世纪末, 大气二氧化碳将会增加到 $700 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ [1]。有关大气二氧化碳体积分数增高及其全球气候变化, 一直为全世界关注的研究热点之一 [2-8]。春兰 *Cymbidium goeringii* 是中国兰花大家族中品种最丰富, 观赏价值和经济价值均极高的一个种, 也是繁殖最困难的种类之一。随着前几年春兰野生资源遭毁灭性破坏, 春兰已濒临灭绝的边缘。加快春兰的繁殖, 更好地保护国兰资源, 已成为当前中国兰花科学研究的重点和热点。本研究选用春兰的叶片为试验材料, 通过设定人工气候箱二氧化碳不同体积分数, 研究高二氧化碳体积分数对春兰叶片形态结构的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

春兰培养基质为陶粒(直径 3.0 ~ 6.0 mm), 在 121 °C 条件下灭菌 20 min 备用。培养容器是口径

收稿日期: 2010-02-06; 修回日期: 2010-04-02

基金项目: 浙江省绍兴市科技局重点项目(2009A3200P)

作者简介: 汤访评, 讲师, 博士, 从事观赏植物种质资源与遗传育种研究。E-mail: tang-fp@tom.com

为 19 cm、高 25 cm 的兰花泥盆。将灭菌过的基质装满花盆, 各花盆中栽含 5 株成熟兰苗的兰丛, 15 d 用 1/2MS(Murashige and Skoog)培养液施肥 1 次^[9], 平时用蒸馏水进行浇灌, 实行“不干不浇, 一次浸透”的原则。

本研究在二氧化碳人工气候箱中进行, 一个气候箱中的二氧化碳(所用二氧化碳为高纯度气体)体积分数设定值为 $370 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 培养箱中实际数值为 $370 \pm 50 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 作为对照, 以模拟目前大气中二氧化碳体积分数; 另一个培养箱中的二氧化碳体积分数设定值为 $700 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 培养箱中实际数值为 $700 \pm 50 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, 以模拟 21 世纪末大气中二氧化碳体积分数。光照时数为 $16 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$, 光强为 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光期温度为 $26 \text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度为 90%, 黑暗时温度为 $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度大于 90%。

研究从 2009 年 4 月开始, 处理 2 个月后, 取实验过程中新长出的成熟叶作为检测材料。

1.2 实验方法

1.2.1 叶面积与叶厚度的测定 分别选取处理组和对照组春兰各 10 株, 取相同叶位的 10 片叶片在 WDY-500A 型叶面积测量仪上测量各组叶片的叶面积。将叶片折叠成块状后投入盛有一定体积水的量筒中, 用排水法^[8]测叶片的体积。叶体积除以叶面积即为叶厚度。

1.2.2 叶绿体质量分数测定 取相同叶位叶片, 称量 1.0 g 鲜质量叶片置于 $0.35 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯化钠等渗溶液中迅速捣碎(在 $0 \sim 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 温度下进行)。将匀浆用 6 层纱布过滤于烧杯中, 取滤液在 $1\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 2 min, 弃去沉淀。将上清液在 $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 5 min, 弃去上清液, 沉淀的即为叶绿体, 称量^[9]。

1.2.3 气孔密度和气孔指数测定 取相同叶位的叶片, 刮去上表皮和叶肉细胞, 剩下下表皮, 制成光学切片。每处理制 5 个, 置于光学显微镜下, 各选取 4 个视野进行观测计数, 换算得气孔密度(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$), 单位面积的表皮细胞数与气孔数之和即表皮细胞密度(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$), 气孔指数 = (气孔密度/表皮细胞密度) $\times 100\%$ ^[10]。用 SPASS 13.0 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 叶面积与叶厚度变化

春兰具假鳞茎, 一株春兰约 5 片叶子, 各选取第 3 叶位的叶子进行测量。结果显示(表 1): 春兰在 CO_2 体积分数增加情况下, 叶面积有了明显的变化, 对照的平均值为 20.63 mm^2 , 而处理组叶面积平均值为 27.62 mm^2 , 增大了 33.88%, 差异极显著, 主要表现在叶片宽度的变化, 而长度基本无变化。处理组叶片的厚度无显著性变化。

表 1 对照组与处理组春兰叶片形态比较

Table 1 Comparison with leaf morphology of *Cymbidium goeringii* of the control and the treated

处理	叶面积/ ($\text{mm}^2\cdot\text{片}^{-1}$)	叶厚度/ μm	叶绿体质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	表皮细胞密度/ (个 $\cdot\text{mm}^{-2}$)	气孔密度/ (个 $\cdot\text{mm}^{-2}$)	气孔指数/%
对照组	$21.73 \pm 3.61 \text{ B}$	$75.11 \pm 3.86 \text{ a}$	$135.60 \pm 10.73 \text{ B}$	$1\ 729.46 \pm 256.08 \text{ a}$	$193.41 \pm 41.52 \text{ A}$	$10.06 \pm 1.55 \text{ A}$
处理组	$26.52 \pm 3.16 \text{ A}$	$76.15 \pm 4.26 \text{ a}$	$180.30 \pm 9.90 \text{ A}$	$1\ 561.29 \pm 121.99 \text{ b}$	$139.82 \pm 23.03 \text{ B}$	$8.26 \pm 1.49 \text{ B}$

说明: 字母代表经 Tukey 检验的差异性, 不同大写字母表示 $P < 0.01$; 不同小写字母表示 $P < 0.05$ 。

2.2 叶绿体质量分数变化

由表 1 结果可以看出, 处理组春兰叶片的叶绿体质量分数为 $180.30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 增加了 33.09%, 差异极显著, 这说明二氧化碳体积分数增加促进了叶绿体的形成。

2.3 表皮细胞密度变化

处理组春兰叶片表皮细胞密度为 $1\ 561.29$ 个 $\cdot\text{mm}^{-2}$, 比对照下降了 9.72%, 差异显著(表 1)。

2.4 气孔密度与气孔指数变化

结果显示(表 1), 处理组春兰叶片气孔密度显著下降, 为 139.82 个 $\cdot\text{mm}^{-2}$, 与对照组相比下降了 27.71%。同样, 随着二氧化碳体积分数的倍增, 气孔指数也处于下降趋势, 处理组和对照组之间差异

极显著。与对照相比,处理组春兰气孔密度下降比表皮细胞密度的下降幅度要大,可能是由于气孔器的发生和发育受到高体积分数二氧化碳抑制造成的。

2.5 气孔形态变化

扫描电镜下观察发现,处理组春兰的气孔器长度发生了明显的变化,对照组的气孔呈圆形(图 1-A),而处理组的叶片气孔呈长椭圆形(图 1-B)。处理组气孔开度变小,使得细胞内的水分散失减少,在细胞内储存的水分增加,从而使细胞看起来较饱满。

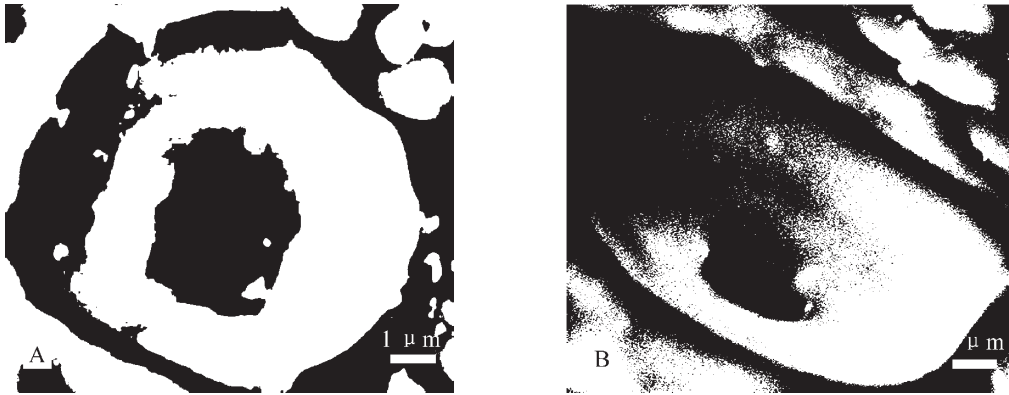


图 1 电镜下春兰叶片的气孔形态(A 对照组叶片气孔; B 处理组叶片气孔)

Figure 1 SEM stomatal morphology of *Cymbidium goeringii* leaf of the control(A) and the treated (B)

3 讨论

迄今为止,已达 60 多种植物被用于进行二氧化碳体积分数增加的影响研究,其中包括 30 多种农作物和近 30 种树木和杂草^[11],但很少涉及到观赏植物,春兰对二氧化碳体积分数升高响应的研究未见报道。以往关于植物对大气二氧化碳体积分数变化的响应,主要集中在植物光合与呼吸强度、营养器官各种生长参数和结构、水分利用效率、生物量与产量、植物化学成分以及主要酶系统含量等方面的影响^[3-6],对植物器官形态结构的变化则研究较少。如植物的光合器官——叶片,作为植物对环境条件变化较为敏感的营养器官,其表型特征和生理生化特征的变化都能体现环境因子变化对它的影响或植物对环境的适应^[12-14]。

从多数试验结果来看,在高体积分数二氧化碳环境下,叶片的数量普遍增多、叶片增厚、叶面积增大^[15]。本研究中,经二氧化碳倍增处理 2 个月后,春兰的叶片叶面积比对照极显著增大,但春兰叶片数量、厚度与长度并没有增大。这与前人的研究结果不一致,有待进一步研究。

在二氧化碳体积分数倍增条件下,栽培植物表皮细胞密度和维管束鞘细胞中的叶绿体数明显增加,野生植物则呈相反趋势。魏氓等^[13]观察发现高二氧化碳体积分数处理下黄瓜 *Cucumis sativus* 叶片叶绿体的长度和宽度分别比对照增加 8.36% 和 26.49%。杨松涛等^[14]的实验表明,在高二氧化碳体积分数下水稻 *Oryza sativa* 叶绿体内的淀粉粒增加,叶绿体由原来的近梭形变成椭圆形或近圆形。该研究中,经二氧化碳倍增处理后春兰叶绿体的质量分数有极显著提高,说明高二氧化碳体积分数的升高有利于增强春兰的光合作用。

在二氧化碳体积分数升高对气孔参数的影响方面,不同植物表现各不相同^[15]。Woodward^[3]通过比较不同年代的植物标本和分析一些实验结果后认为,有 60.00% 的植物会因二氧化碳体积分数升高气孔密度下降。二氧化碳体积分数升高可造成气孔关闭,长期处于高二氧化碳体积分数环境还会影响气孔的发育。该研究发现,高体积分数二氧化碳下春兰气孔密度下降,气孔变狭长,即气孔开度变小。气孔密度减少和气孔关闭的重要生理意义在于使植物的水分利用效应发生改变,这种效应越大,意味着植物光合速率越高^[16]。而 Murry^[17]曾假设高二氧化碳体积分数引起的气孔导度与水分利用率的变化是调节气孔内腔空间的结果,而非气孔的多少引起的。可见,对二氧化碳体积分数升高影响气孔的形

态结构和发育情况的研究应与气体交换的研究结合起来, 才能正确理解高体积分数二氧化碳对植物叶片气孔的生理生化影响。

参考文献:

- [1] LOWENSTEIN T K, DEMICCO R V. Elevated eocene atmospheric CO₂ and its subsequent decline [J]. *Science*, 2006, **313**: 19 – 28.
- [2] 张新时, 高琼, 杨奠安, 等. 全球变化中国东北样带的梯度分析及其预测[J]. 植物学报, 1997, **39** (9): 785 – 799.
ZHANG Xinshi, GAO Qiong, YANG Dian'an, *et al.* A gradient analysis and prediction on the Northeast China Transect (NECT) for global change study [J]. *Acta Bot Sin*, 1997, **39** (9): 785 – 799.
- [3] WOODWARD F I. Potential impacts of global elevated CO₂ concentrations on plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, **5**: 207 – 211.
- [4] LONG S P, AINSWORTH E A, ROGERS A, *et al.* Rising atmospheric carbon dioxide: plants face the future [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 2004, **55**: 591 – 628.
- [5] LONG S P, AINSWORTH E A, LEAKEY A D B, *et al.* Food for thought: lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations [J]. *Science*, 2006, **312**: 1918 – 1921.
- [6] KÖRNER C. Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply [J]. *New Phytol*, 2006, **172**: 393 – 411.
- [7] MURASHIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. *Physiol Plant*, 1962, **15**: 473 – 497.
- [8] 许守民, 阎秀峰, 梁秀英, 等. 应用浮力法测定叶片厚度、密度及内部空间体积[J]. 植物生理学通讯, 1989, **25** (5): 58 – 61.
XU Shoumin, YAN Xiufeng, LIANG Xiuying *et al.* Application of buoyancy method for measuring leaf thickness, volume, density and internal gas volume [J]. *Plant Physiol Commun*, 1989, **25** (5): 58 – 61.
- [9] PRICE C A, CUSHMAN J C, MENDIOLA-MORGENTHALER LR, *et al.* Isolation of plastids in density gradients of percoll and other silica sols[M]//PACKER I, DOUCE R. *Methods in Enzymology*: 148. San Diego: Academic Press, 1987: 157 – 179.
- [10] RADOGLUOU K M, JARVIS P G. The effects of CO₂ enrichment and nutrient supply on growth morphology and anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings [J]. *Ann Bot*, 1992, **70**: 245 – 256.
- [11] 张昕, 张秀芬, 鞠赋红. 大气 CO₂ 浓度升高对植物形态结构的影响[J]. 莱阳农学院学报, 1997, **14** (1): 36 – 41.
ZHANG Xin, ZHANG Xiufen, JU Fuhong. Effects of elevated CO₂ concentration on plant morphology and structure [J]. *J Laiyang Agric Coll*, 1997, **14** (1): 36 – 41.
- [12] 谢永宏, 于丹, 耿显华. CO₂ 浓度升高对沉水植物菹草叶表型及生理生化特征的影响[J]. 植物生态学报, 2003, **27** (2): 218 – 222.
XIE Yonghong, YU Dan, GENG Xianhua. Effects of elevated CO₂ concentration on phenotypic, physiological and biochemical characteristics of submersed plant *Potamogeton crispus* leaf [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 2003, **27** (2): 218 – 222.
- [13] 魏珉, 邢禹贤, 王秀峰, 等. CO₂ 加富对黄瓜叶片显微和亚显微结构的影响[J]. 园艺学报, 2002, **29** (1): 30 – 34.
WEI Min, XING Yuxian, WANG Xiufeng, *et al.* Effects of CO₂ enrichment on the microstructure and ultrastructure of leaves in cucumber [J]. *Acta Horti Sin*, 2002, **29** (1): 30 – 34.
- [14] 左宝玉, 姜桂珍, 白克智, 等. CO₂ 浓度倍增对谷子和紫花苜蓿叶绿体超微结构的效应[J]. 植物学报, 1996, **38** (1): 72 – 76.
ZUO Baoyu, JIANG Guizhen, BAI Kezhi, *et al.* Effect of doubled CO₂ concentration on the ultrastructure of chloroplasts from *Medicago sativa* and *Setaria italica* [J]. *Acta Bot Sin*, 1996, **38** (1): 72 – 76.
- [15] PRITEHARD S G, ROGERS H H, PRIOR S A, *et al.* Elevated CO₂ and plant structure: a review [J]. *Global Change Biol*, 1999, **5**: 807 – 837.
- [16] 蒋高明. 全球大气二氧化碳浓度升高对植物的影响[J]. 植物学通报, 1995, **12** (4): 1 – 7.
JIANG Gaoming. The impact of global increasing of CO₂ on plants [J]. *Chin Bull Bot*, 1995, **12** (4): 1 – 7.
- [17] MURRAY D R. Plant responses to carbon dioxide [J]. *Am J Bot*, 1995, **82**: 690 – 697.