

镧对辣根叶净光合速率和细胞超微结构的影响

周青*, 周丽

(江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏无锡 214036)

摘要: 测定了用稀土镧[La(III)]处理过的辣根(*Armoracia rusticana*)叶片净光合速率(Pn)和叶绿素(Chl)含量,并用透射电镜观察了经La(III)处理后辣根叶绿体超微结构的变化。结果表明,30 mg L⁻¹ La(III)处理24 h, Pn和Chl含量较对照分别提高0.82%、3.69%,对应的超微细胞结构无明显变化;48 h处理则抑制辣根光合作用,细胞结构变化明显,类囊体基粒片层垛叠变薄,结构松散。而60 mg L⁻¹ La(III) 24 h、48 h处理对辣根的生理和结构均有明显的抑制和破坏,且时间越长破坏越严重。对Pn和Chl含量进行处理时间、稀土浓度及两者共同作用多因素方差分析得出,处理时间对Chl含量的影响不显著,但对Pn的影响极显著,且稀土浓度及二者的共同作用对Pn和Chl含量均达到极显著影响。

关键词: 镧;辣根;叶绿体;超微结构;叶绿素;光合作用

中图分类号: Q945.12

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)02-0121-05

Effects of Lanthanum (III) on Net Photosynthetic Rate and Ultrastructure in *Armoracia rusticana* Leaves

ZHOU Qing*, ZHOU Li

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: *Armoracia rusticana* leaves treated with lanthanum (III) were determined in net photosynthetic rate (Pn) and chlorophyll (Chl) content. Changes in chloroplast ultrastructure were observed under transmission electronic microscopy. After 24-hour treatment with 30 mg L⁻¹ La(III), Pn and Chl content in leaves increased by 0.82% and 3.69%, respectively, and the ultrastructure of chloroplast deformed slightly. After 48-hour treatment with 30 mg L⁻¹ La(III), photosynthesis was inhibited and granum-thylakoid structure tended to be thinner and loose and incompact. After 24 or 48-hour treatment with 60 mg L⁻¹ La(III), Pn and Chl content were remarkably decreased and the chloroplast ultrastructure was effectively destroyed. Moreover, the ultrastructure deformed severely as the treatment time prolonged. The multifactor variance analysis showed that the length of treatment time had a slight effect on Chl content but a significant effect on Pn, whereas the lanthanum level singly or together with the treatment time significantly affected Chl content and Pn.

Key words: Lanthanum; *Armoracia rusticana*; Chloroplast; Ultrastructure; Chlorophyll; Photosynthesis

辣根(*Armoracia rusticana*)为十字花科多年生草本植物。它有独特的刺激性的辛辣味,作为调料在日本、韩国、英国和匈牙利等国广为流行,具有抗菌杀虫、抗肿瘤、抗癌等保健功效^[1-2]。辣根中的过氧化

物酶(辣根过氧化物酶,HRP)是目前使用最广泛的酶,也是临床医学中用于诊断标记的常用标记物。稀土(Rare earth, RE)农用是中国科学家首创、居世界领先水平且经济效益显著的一项成果。适量的稀

收稿日期: 2006-08-25 接受日期: 2006-12-20

基金项目: 国家发改委稀土专项基金项目(IFZ20051210), 国家自然科学基金项目(30570323)资助

* 通讯作者 Corresponding author

土施用于作物之后不仅可以增产,还能起到改善产品品质的作用。

在前期研究中,我们得出低浓度镧[La(III)] $\leq 20 \text{ mg L}^{-1}$ 能有效促进辣根生长^[3]。本文用 30 mg L^{-1} 和 60 mg L^{-1} La(III)在不同时间(24 h, 48 h)处理辣根,研究短时间、高浓度 La(III)对辣根光合速率、叶绿素含量和叶绿体超微结构的影响,为稀土在辣根上的安全应用提供借鉴。

1 材料和方法

材料 实验地设于江南大学试验田内,面积 80 m^2 。辣根(*Armoracia rusticana*)种子由大丰市辣根生产基地提供,栽培参照韩凤等方法^[4]。

实验于 2005 年 8 月中旬进行,选取相同叶龄、叶位、生长方向的辣根功能叶进行稀土处理。

方法 用 30 mg L^{-1} 和 60 mg L^{-1} 的 LaCl_3 溶液对辣根叶片进行喷施,对照喷等量蒸馏水,喷施以叶片正反面均匀布满液滴且不下滴为限,每处理设 3 个平行。样品经稀土处理 24 h、48 h 后,分别进行净光合速率(Pn)、叶绿素含量(Chl)的测定,并采样制片置电镜下观察,拍照。

电镜超薄切片的制备 将叶片切成 $1 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 的小条,立即投入 2.5%戊二醛溶液(0.2 mg L^{-1} PBS pH 7.2)中固定 12 h, 0.2 mg L^{-1} PBS 冲洗。再以 1%锇酸溶液(缓冲液同上)固定 2 h,双蒸水冲洗后,乙醇-丙酮梯度脱水, Epon812 环氧树脂包埋, LKB-5 型超薄切片机切片(厚度 60 nm),醋酸铀、柠檬酸铅染色后,在 H-600 透射电镜下观察,拍照。

净光合速率(Pn)、叶绿素(Chl)含量的测定 用 CIRAS21 便携式光合系统(PPS, UK)在设定人工光

强 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 下测定植株净光合速率;叶绿素含量测定按张志良和汤章城的方法^[5-6]。并使用 MATLAB 数值计算软件对所得数据进行分析。

2 实验结果

2.1 Pn 和 Chl 含量的变化

由表 1 可知, 30 mg L^{-1} 的 La(III)处理 24 h 后,辣根 Pn 和 Chl 含量均比对照略有升高, 60 mg L^{-1} 浓度处理的分别降低了 3.87%和 12.75%。而两种浓度处理 48 h 后,辣根 Pn 和 Chl 含量均被抑制, 30 mg L^{-1} 处理的分别较对照降低 3.55%和 13.16%, 60 mg L^{-1} 处理的分别下降了 15.80%和 36.84%。可见,中浓度的 La(III)短时间处理(24 h 内)对辣根的光合作用有一定的促进,但长时间处理则会产生抑制作用;而高浓度的 La(III)对辣根的光合作用有明显抑制,且随作用时间的延长而加剧。因此,对于稀土 La(III)在辣根作物上的应用来说,施用的浓度以较低浓度($<30 \text{ mg L}^{-1}$)为宜。经统计分析(表 2)可知,处理时间因素对 Chl 含量的影响不显著,但对 Pn 的影响达极显著,稀土以及处理时间和稀土的交互因素对二者均呈极显著影响。

2.2 细胞学观察

细胞是构成一切生物形态与功能的基本单位,而叶绿体是植物绿色细胞光合作用过程中的能量转换器。因此,在对叶绿体光合功能研究的同时,我们对其细胞结构变化进行了细致的观察。

从图 1 可知,未经 La(III)处理的辣根叶片细胞排列整齐,质壁清晰完整,叶绿体结构完整,呈椭圆形,规则排列于细胞质膜四周,基粒类囊体排列整齐,片层结构紧密(图版 I: 1, 2)。经 30 mg L^{-1} La(III)

表 1 La(III)对辣根叶绿素含量和净光合速率的影响

Table 1 Effects of La(III) on chlorophyll (Chl) content and net photosynthetic rate (Pn) in *Armoracia rusticana* leaves

La(III) (mg L^{-1})	处理时间 Treatment time (h)	叶绿素含量 Chl content (mg g^{-1})	叶绿素含量相对值 Relative Chl content (%)	净光合速率 Pn ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	净光合速率相对值* Relative Pn (%)
0	24	1.63 ± 0.03	100	4.97 ± 0.11	100
	48	1.72 ± 0.02	100	5.07 ± 0.10	100
30	24	1.65 ± 0.02	100.82	5.15 ± 0.11	103.69
	48	1.66 ± 0.01	96.45	4.40 ± 0.05	86.84
60	24	1.60 ± 0.03	96.13	4.33 ± 0.03	87.25
	48	1.45 ± 0.01	84.2	3.20 ± 0.12	63.16

*相对值为稀土处理组与相应对照组之比。Relative values mean percentages of treatment with respect to control.

表2 辣根叶 Pn 和 Chl 含量的多因素方差分析

Table 2 Multifactor variance analysis of chlorophyll (Chl) content and net photosynthetic rate (Pn) in *Armoracia rusticana* leaves

变量 Variant	P值		
	时间因素 Time factor	稀土因素 Rare earth factor	处理时间与稀土的共同作用因素 Interaction of treatment time and rare earth
Pn	0.0001	0	0.0011
Chl content	0.1045	0.0003	0.0021

表中 P<0.05 表示差异显著, P<0.01 表示差异极显著。

P<0.05 denotes significant difference. P<0.01 denotes extremely significant difference.

处理 24 h 的辣根叶片中, 叶绿体结构完整, 基粒类囊体片层结构紧密, 排列整齐, 与对照相比无明显变化(图版 I: 3), 处理 48 h 后的基粒类囊体垛叠变薄、片层结构发生松散, 其间多为基质类囊体(图版 I: 4)。而 60 mg L⁻¹ La(III)处理 24 h 的辣根叶片中, 有轻微质壁分离现象, 叶绿体变形较严重, 部分基粒片层结构较清晰, 而膜周围类囊体结构松散杂乱, 叶绿体膜发生破裂, 基质部分外泄(图版 I: 5), 处理 48 h 后质壁明显分离, 质膜破损严重, 叶绿体膜结构完全破裂, 类囊体结构几呈放射状, 叶绿体严重受损, 嗜饿颗粒较其 24 h 明显增多(图版 I: 6)。

3 讨论

魏幼彰^[7]利用电镜技术观察钆对油菜细胞超微结构的影响得到, 低浓度钆对完全营养液培养的油菜顶叶叶尖细胞的叶绿体片层结构有明显的改善作用, 而高浓度钆会引起细胞结构损坏。Gao Y^[8]等利用透射电镜、扫描电镜和 X- 射线能量散射发现稀土镧和铈能进入细胞, 指出这是稀土影响植物生理学和生物化学的基本原因。

同时, 晏文武^[9]等的研究表明, 低、中浓度的 La(III)(15–30 mg L⁻¹) 促进 Hill 反应, 提高 Mg²⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性, 在叶绿体被膜、富含 PS I 的膜变性蛋白、PS II 上都有 La (III) 分布, 但 90% 的 La(III)集中在 PS II 中, 而用高浓度 60 mg L⁻¹ 处理时, 对上述各光合指标均有明显的抑制作用, 并指出 PS II 中高含量 La(III)的存在可能是这些光合指标降低的主要原因。这些进入叶绿体的 La(III)不仅可以部分取代 PS II 中叶绿素结合蛋白中与叶

绿素相结合的 Mg²⁺, 而且还可能竞争结合到 PS II 中 Ca²⁺ 和 Mn²⁺ 的结合位点上来, 从而改变原有类囊体膜的结构。而前人在研究叶绿体结构状态与光合作用的光化学反应活性关系时认为^[10-11]: 类囊体结构的完整性和有序性对叶绿体在光合作用中进行正常而有效的光能转换是非常必要的。这可能是稀土影响植物光合的主要原因。

本文研究发现, 30 mg L⁻¹ La(III) 24 h 处理对辣根光合有轻微促进, Pn 和 Chl 含量较对照分别提高 0.82%、3.69%, 而对应的超微细胞结构图无明显变化, 48 h 则出现抑制和破坏现象; 而 60 mg L⁻¹ La(III) 24 h、48 h 处理对辣根的生理和结构均有明显的抑制和破坏, 且 48 h 的较 24 h 严重, 呈现明显急性伤害。对生理学指标进行统计分析得到, 处理时间对 Chl 含量的影响不显著, 但对 Pn 的影响达极显著, 稀土以及处理时间和稀土的共同作用因素对二者均呈极显著影响。结合前人研究, 我们推测 La(III)作用辣根后引起光合性能变化的原因, 可能主要由于 La(III)进入了叶绿体, 由于竞争了其它金属离子的结合位点, 改变了叶绿体类囊体的结构, 从而影响叶绿体对光能的吸收, 影响了膜系统上分布的各酶的活性, 使代谢途径受阻, 同时由于 PS II 和 PS I 作用中心色素分别分布于类囊体膜内、外侧, 因此也会影响到电子传递链, 最终表现为植株光合能力的改变。

参考文献

- [1] Lin L Q(林丽钦). The piquancy component and its function of wasabi, horseradish and mustard [J]. Light Text Indus FUJIAN (福建轻纺), 1999, 9:2–4. (in Chinese)
- [2] 黄建, 孙静. 葡糖异硫氰酸酯的生物利用率及对人体健康的意义 [J]. 国外医学卫生学分册, 2003, 30(2):94–97.
- [3] Zhou L(周丽), Zhou Q(周青). Effects of La on some ecophysiology index of Horseradish [J]. Syst Sci Compre Stud Agri (农业系统科学与综合研究), 2006, 22(2):136–138. (in Chinese)
- [4] Han F(韩凤), Lin M X(林茂祥), Li J(李娟). Practical culture techniques on *Armoracia rusticana* [J]. Spec Econ Anin Plant(特种经济动植物), 2004(12):24. (in Chinese)
- [5] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2004:67–69.
- [6] 汤章城. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2004:95–96.
- [7] Wei Y Z(魏幼璋), Gao Q K(高其康). The effect of rare-earth element neodymium on ultrastructure of oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. J Chin Elect Micros Soc, 2000, 19(2):149–153. (in

Chinese)

- [8] Gao Y, Zeng F, Yi A, et al. Research of the entry of rare earth elements Eu^{3+} and La^{3+} into plant cell [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2003, 91(3):253–265.
- [9] Yan W W(晏文武), Yang L M(杨利民), Wang Q Q(王秋泉). Distribution of lanthanum among the chloroplast subcomponents of spinach and its biological effects on photosynthesis: location of the lanthanum binding sites in photosystem II [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 2005, 50(12):1714–1720. (in Chinese)
- [10] Li G F(李功藩), Cai W P(蔡琬平), Wu Y J(吴亚君). The relationship between structural status and photochemical activity of chloroplasts [J]. *Acta Photophy Sin (植物生理与分子生物学学报)*, 1987, 3(3):295–301. (in Chinese)
- [11] 王三根. 植物生理生化 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001:103.

图版说明

CW: 细胞壁; PM: 细胞膜; Chl: 叶绿体; ChM: 叶绿体膜; G: 基粒类囊体; Th: 基质类囊体; OS: 嗜钷颗粒; SG: 淀粉颗粒。

图版 I

1, 2. 对照, 完整细胞结构(1), 完整叶绿体结构(2); 1. $\times 6\ 000$; 2. $\times 15\ 000$;

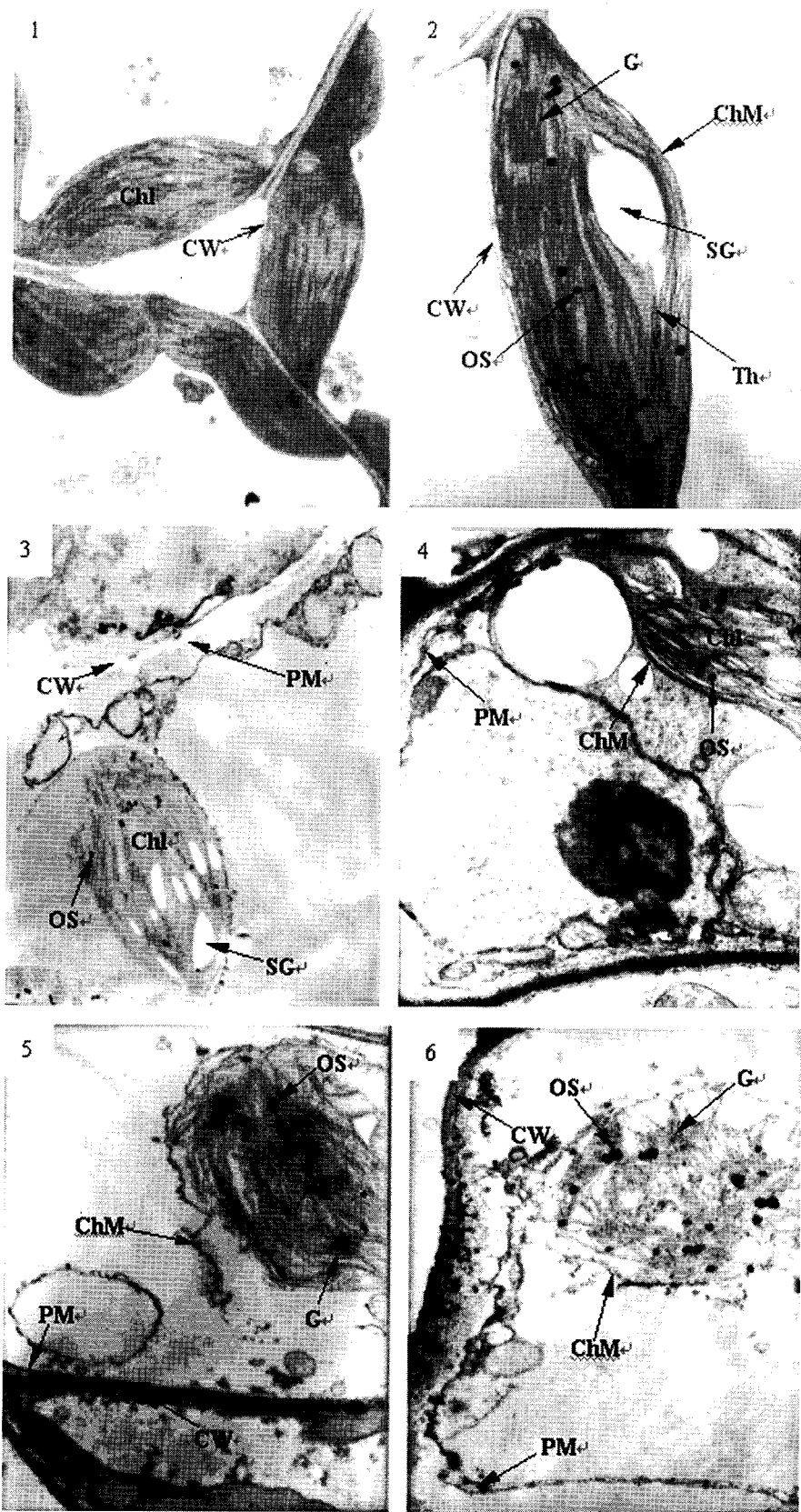
3. $30\ \text{mg L}^{-1}$ 镧处理 24 h 的叶绿体结构; $\times 8\ 000$
 4. $30\ \text{mg L}^{-1}$ 镧处理 48 h 的叶绿体结构; $\times 20\ 000$
 5. $60\ \text{mg L}^{-1}$ 镧处理 24 h 的叶绿体结构; $\times 10\ 000$
 6. $60\ \text{mg L}^{-1}$ 镧处理 48 h 的叶绿体结构; $\times 10\ 000$

Explanation of plate

CW: Cell wall; PM: Plasmalemma; Chl: Chloroplast; ChM: Chloroplast membrane; G: Granum-thylakoid; Th: Stroma-thylakoid; OS: Osmiophilic granule; SG: Starch granule.

Plate I

- 1, 2. Control, structure of cell (1), Normal structure of chloroplast (2);
 1. $\times 6\ 000$; 2. $\times 15\ 000$
 3. Chloroplast ultrastructure treated with $30\ \text{mg L}^{-1}$ La(III) for 24 h;
 $\times 8\ 000$
 4. Chloroplast ultrastructure treated with $30\ \text{mg L}^{-1}$ La(III) for 48 h;
 $\times 20\ 000$
 5. Chloroplast ultrastructure treated with $60\ \text{mg L}^{-1}$ La(III) for 24 h;
 $\times 10\ 000$
 6. Chloroplast ultrastructure treated with $60\ \text{mg L}^{-1}$ La(III) for 48 h.
 $\times 10\ 000$



周青等: 图版 I

ZHOU Qing et al.: Plate I