

巴西橡胶树若干品系叶切片的超微结构观察

张江洪

杨汉金 林梅馨

(厦门出入境检验检疫局 361012 厦门大学生命科学学院 361005)

摘要 本文对巴西橡胶的若干品系叶片进行了显微和超微结构的观察。实验结果表明:巴西橡胶不同品系间的叶片解剖结构存在明显差异:古农 96-28, RRIM600 和 IAN873 叶片维管束鞘细胞含有丰富的叶绿体,基粒片层较发达,且韧皮部薄壁细胞,木质部薄壁细胞和射线细胞也含有叶绿体,但没有典型的“花环型”结构;IAN873 叶片维管束鞘细胞里富含两种类型的光合膜、线粒体和发达的内质网等多种细胞器。而天任 31-45 等的叶片鞘细胞仅含少量叶绿体,其片层不发达,且无基粒。

关键词 巴西橡胶树 叶肉细胞 鞘细胞 RuBP 羧化酶

目前关于巴西橡胶的研究内容大多集中在生产方面,加上热带作物的基础研究本来就比较薄弱。迄今,尚未见报道巴西橡胶这一热带作物究竟属何种碳素同化途径?不同品系间是否存在差异?胶树在其个体发育过程中的光合特性有否发生变化?基于此,我们对巴西橡胶若干品系的叶片进行显微和超微结构的观察,并在此基础上利用荧光抗体方法对叶片内 RuBP 羧化酶的分布作相应的定位研究。

一、材料与方方法

1、研究材料

本实验使用的材料系巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 高产品系 RRIM600, 中产品系 GT1、东试 93-114, 和低产品系天任 31-45 以及 IAN873 的稳定叶片。取自以下三个地方培育的苗和胶树:1991 年 1 月以种子培育在厦门大学植物园温室中的实生苗天任 31-45、东试 93-114、RRIM600、GT1、株高在 50-60cm; 1989 年秋季在福建省热带作

物研究所的橡胶系比苗园中芽接的幼苗:天任 31-45、GT1、东试 93-114、IAN873、RRIM600 的第一、第二、第三蓬叶;1971 年定植于诏安县建设农场实验山的割胶树 RRIM600、古农 96-28。并以典型 C₃ 植物水稻和 C₄ 植物甘蔗等材料作分析比较。

2.研究方法

①显微镜观察 从叶片切取第二级脉的组织块,采用徒手切片(横切),活体显微观察叶肉的分化和维管束鞘细胞中有无叶绿体分布,并作显微摄影。

②电子显微镜观察 取实验材料叶子的二级脉,在滴有若干滴 2.5%戊二醛(pH7.4)的玻璃板上切成 1.0×1.0mm 的组织块,用 2.5%戊二醛(pH7.4)前固定,反复抽气,使组织块沉没在戊二醛固定液中,冰箱静置 4hrs 以上。然后用 0.2M、pH7.4 的磷酸缓冲液对前固定后的组织块反复冲洗三次,前后冲洗的材料静置时间为 30min,再以 1%的锇酸进行后固定,饱和醋酸双氧铀块染 Epon618 环氧树脂包埋,包埋块经维管束鞘定位后修去旁边

的叶肉部位，而后用 LKB-V 型超薄切片机切片，以柠檬酸铅片染在 JEM-100CX II 型透射电子显微镜下观察和照相。

二、结果与分析

1. 不同光合途径的植物叶维管束显微结构比较

① C₃ 植物和 C₄ 植物叶维管束显微结构比较 不同光合碳素同化途径的植物，其维管束显微结构有显著的区别：C₃ 植物(如水稻)维管束鞘不发达，叶肉细胞有正常叶绿体，而维管束鞘细胞没有或几乎没有叶绿体，鞘周围叶肉细胞排列较疏松，不具 Kranz 花环结构，维管束距离较大。C₄ 植物(如甘蔗)维管束鞘细胞发达，维管束鞘细胞也有叶绿体，鞘周围叶肉细胞排列较紧密，具 Kranz 花环结构，维管束间距离小。

② 巴西橡胶树不同品系叶维管束的显微观察 巴西橡胶树不同品系的叶维管束显微结构有较明显的差异：古农 96-28 的叶维管束含有较大数量的叶绿体，其形状大小的差异幅度较大，一部分叶绿体沿维管束外缘细胞呈半月形分布，而另一部分叶绿体除了在维管束和厚壁细胞之间的薄壁细胞区域广泛存在之外，维管束内也有呈辐射线状的分布，甚至在机械组织的厚壁细胞里也有零星的小叶绿体。薄壁细胞区里的叶绿体分布极不均匀，有若干含数量较多叶绿体的薄壁细胞紧邻在一起，呈线形连接厚壁细胞和维管束外缘细胞，这种分布特征可能有利于光合初产物的运输。RRIM600 叶片维管束解剖结构与古农 96-28 相似，不仅维管束鞘细胞含有叶绿体，而且韧皮部和木质部薄壁细胞以及射线薄壁细胞也含有叶绿体；在维管束中薄壁细胞区叶绿体呈不均匀分布，富含

叶绿体的薄壁细胞形成一个“绿色带”连接厚壁细胞和维管束外缘细胞，并沿射线分布，这表明二者之间在遗传来源上存在某种近缘关系。但 RRIM600 的叶绿体颗粒较小且差异幅度也没有古农 96-28 那么大，厚壁细胞 1-5 层，有零星的叶绿体。天任 31-45 和 93-114 叶片维管束中的叶绿体分布相近似，即在鞘细胞和其它薄壁细胞区域里的叶绿体数量很少，几乎看不到明显的“射线分布”特点，但天任 31-45 的厚壁细胞较之 93-114，排列更紧凑，且细胞壁也较厚，这可能与两者之间的抗性差异有一定的关系。

对巴西橡胶各个品系叶子的解剖观察结果表明，其叶肉的分化具有旱生结构的特征，即下表皮毗接的叶肉分化成一层排列紧凑而细胞较短小的栅栏组织(图 1)。下表皮毗接的这层栅栏组织的细胞和上表皮毗接栅栏组织的细胞一样，富含 RuBP 羧化酶(另文，待发表)。其面积约为上表皮毗接的栅栏组织的 1/3-1/2。这一特殊结构为各个品系所共有，只是在其幼苗的发育先后上存有微小差异。

巴西橡胶树的一些品系(如古农 96-28, RRIM600 等)叶片维管束鞘细胞含有叶绿体，这与 C₄ 植物相似，但没有典型的“花环型”结构。其不仅维管束鞘细胞含有叶绿体，而且韧皮部薄壁细胞，木质部薄壁细胞和射线细胞也含有叶绿体；但有些品系(如天任 31-45 等)叶片鞘细胞仅含少量叶绿体。总之，巴西橡胶树不同品系叶片鞘细胞叶绿体的含量有明显区别。

2. 巴西胶树不同品系叶片维管束鞘细胞超微结构的比较

采取定位超薄切片，应用透射电子显微镜观察。结果表明，巴西橡胶树不同品系的叶片维管束鞘细胞超微结构有明显区别。

IAN873 叶片的维管束鞘细胞里所含有的细胞器种类较多。不仅具有丰富的线粒体(图 2)和发达的内质网, 而且具有丰富的光合膜。这个品系鞘细胞所含的光合膜有两种类型。一类不具叶绿体结构, 而由许多片层平行排列在细胞中, 且充满整个细胞(图 3)。另一类具有叶绿体结构, 且有基粒(图 4)。这说明 IAN873 维管束鞘细胞具有相当旺盛的能量代谢和物质代谢。RRIM600 叶片的维管束细胞含有丰富的叶绿体, 其片层较发达, 具有基粒的叶绿体占大多数(图 5)。这个品系叶片维管束鞘细胞含有丰富的, 且具基粒的叶绿体可能是有利于增强光合效率和产物运转的重要特征。但 RRIM600 维管束鞘细胞里所含的其它细胞器种类不如 IAN873 的丰富。古农 96-28 叶片的维管束鞘细胞中也含有丰富的叶绿体, 图 6 中, 其鞘细胞中的叶绿体基粒片层较发达, 而 GT1 和 93-114 两个品系鞘细胞虽也含有基粒片层的叶绿体, 但数量较少。同时这两个品系维管束鞘细胞里的其它细胞器也十分稀少, 天任 31-45 叶片的维管束鞘细胞中, 虽然也含有叶绿体, 但片层甚少, 且无基粒片层。

上述可见, 巴西橡胶树不同品系叶片的维管束鞘细胞内含叶绿体有明显差别。IAN873、RRIM600 和古农 96-28 等品系含有较丰富的叶绿体, 基粒片层较发达; 而天任 31-45 鞘细胞虽也含少量叶绿体, 但片层不发达, 且无基粒。

此外, 我们进一步采用荧光抗体方法, 对巴西橡胶若干品系叶片 RuBP 羧化酶的免疫组织化学定位, 实验结果表明: IAN873 和 RRIM600 的叶片中, 不仅其叶肉细胞, 而且在其维管束鞘细胞中, 均明显有 RuBP 羧化酶的分布(另文, 待发表)。这一免疫组织化学结果和 Bauwe⁽¹⁾(1984)等人对若干 C_3-C_4 中间型

植物种的研究结果相符。

三、讨论

1. 关于巴西橡胶树的叶解剖结构和碳素同化途径

我们对巴西橡胶树叶的显微和超微结构的研究, 证明巴西橡胶树叶维管束鞘细胞有叶绿体, 巴西橡胶树的这一特征与 C_4 植物解剖结构的特征相似, 但是它没有 Kranz 型的叶解剖特征。从我们应用免疫荧光方法对 RuBP 羧化酶的系统研究结果看, RRIM600, IAN873 无论是早期幼苗, 还是开割树的叶片, 其 RuBP 羧化酶免疫荧光反应, 在叶肉细胞和维管束鞘细胞均有很明显的特异荧光, 显示出 RuBP 羧化酶分布于这两类细胞的叶绿体内, 这证明巴西橡胶是属于 C_3-C_4 中间型植物。我们的研究结果与 Bauwe 在黄菊属的两个 C_3-C_4 中间种 *F. pubescens* 和 *F. anomala* 的观察结果一致; Reed 和 Chollet (1985) 也曾利用荧光抗体技术对黄菊属中不同光合型的五个种进行了比较研究, 在 C_4 植物 *Flaveria brownii*, C_3 植物 *F. Cronquistii*, C_3-C_4 中间型植物 *F. linearis*, *F. floridana* 和 *F. chloraefolia* 中, C_3-C_4 中间型植物种的 RuBP 羧化酶在叶肉细胞和维管束鞘细胞里均有分布。以上研究揭示出的 RuBP 羧化酶在叶肉、维管束鞘细胞里的无严格分隔的分布特征, 可以作为鉴定 C_3-C_4 中间种的一个极为重要的生理生化指标。Holaday(1984)等⁽²⁾对黍属中的 *Panicum milioides*, *Moricandia arvensis* 和黄菊属中的 *Flaveria floridana* 中间型植物进行了超微结构的观察, 结果表明, 维管束鞘细胞里除含丰富的叶绿体之外, 还含有许多的大线粒体, 其它细胞器也相当丰富。这一研究结果和我们在 IAN873 等

品系的实验结果相符合。这说明中间型植物的维管束鞘细胞里有比 C_3 植物丰富得多的各种细胞器, 以保证其有较旺盛的能量代谢和物质代谢。Monson 等(1984)通过对不同光合类型形态解剖学的研究, 指出: 中间型植物维管束鞘细胞壁明显地薄于 C_4 植物。我们就橡胶和典型 C_4 植物甘蔗的维管束鞘细胞作了比较, 二者的细胞壁厚度差异显著。根据我们和 Monson 的研究结果表明, 维管束鞘细胞壁厚度的差异可以作为区别 C_4 植物和 C_3-C_4 植物的一个形态学指标。此外, 巴西橡胶维管束鞘细胞里叶绿体的均匀分布特点, 也与 Raghavendra(1980)⁽³⁾所描述的 C_3-C_4 中间型植物特征相吻合。

2. 对于橡胶苗期测产的看法

光合作用中通过 RuBP 羧化酶固定 CO_2 只依赖于活化的 RuBP 羧化酶的量, 而不决定于叶绿体中含有 RuBP 羧化酶的总量。免疫荧光技术是从被活化的 RuBP 羧化酶上反映问题的, 因而可以作为光合效率高低的指标。我们的实验结果表明, 不同品系之间在早期的幼苗发育中存有明显的差异, 因而可以从下述的指标作为早期测产的依据: (1) 维管束鞘细胞是否有特异荧光反应(即存有活化的 RuBP 羧化酶)以及出现的先后; (2) 幼苗发育过程叶肉特殊结构出现的迟早, 尤其是免疫荧光反应出现的迟早; (3) 维管束鞘细胞里细胞器的丰富程度。上述几个指标反映的是光合效应, 即潜在产量, 但橡胶最终的高产还需要有同化产物的快速运输, 较高的物质分配率以及优良的排胶结构、排胶性能等, 因此必须综合若干指标后加以全面评估。

图版说明: (图 1 至图 6 见第 5 页)

图 1、巴西橡胶叶肉解剖结构, 示上、下表皮细胞毗接的两栅栏组织。× 580

图 2、IAN873 叶片鞘细胞里的丰富线粒体。× 19000

图 3、IAN873 叶片鞘细胞里的无基粒片层。× 2900

图 4、IAN873 叶片鞘细胞里叶粒体的淀粉粒。× 36000

图 5、RRIM600 叶片鞘细胞里具基粒的叶绿体。× 19000

图 6、古农 96-28 叶片鞘细胞里具基粒的叶绿体。× 36000

参考文献

1. Bauwe, H., 1984, *Photosynthetic enzyme activities and immunofluorescence studies on the localization of RuBP Case in leaves of C_3 , C_4 and C_3-C_4 intermediate species of Flaveria*. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, Vol.179, 253-268
2. Holaday, A.S. et al., 1984, *C_3-C_4 intermediate species in the genus Flaveria: leaf anatomy, ultrastructure, and the effect of O_2 on the CO_2 compensation concentration*. *Planta*, Vol.160, 25-32
3. Raghavendra, A.S., 1980, *Characteristics of plant species intermediate between C_3 and C_4 pathways of photosynthesis*. *Photosynthetica*, Vol.14, 271-283

