

· 专题论坛 ·

# 植物光合作用的三维特性研究进展

邹青青<sup>1,2</sup>, 吴含玉<sup>1</sup>, 刘东焕<sup>3\*</sup>, 姜闯道<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院植物研究所, 北方资源植物重点实验室, 北京 100093; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049

<sup>3</sup>北京市植物园, 北京 100093

**摘要** 光合作用是地球上最重要的化学反应。虽然针对植物光合作用已经进行了广泛深入的研究, 但从三维层面探讨植物叶片光合功能及其调节作用的工作较少。叶片结构、光合机构组分、叶片内光能吸收和传递均具有明显的三维特性, 极大影响叶片内CO<sub>2</sub>转运、叶肉细胞的电子传递和碳同化, 进而使叶片光合功能及其调控表现出复杂的三维特征。因此, 从三维角度分析叶片光合特性有助于理解光合作用机理, 也能够为提高植物光合作用效率提供理论支持。

**关键词** 叶片结构, 光合作用, 光吸收, 光传递, CO<sub>2</sub>转运, 三维结构

邹青青, 吴含玉, 刘东焕, 姜闯道 (2022). 植物光合作用的三维特性研究进展. 植物学报 57, 250–258.

光合作用是植物光合器官在光驱动下将水和二氧化碳合成碳水化合物并释放氧气的过程。叶片是重要的光合作用器官。以往研究主要从二维层面, 即把整个叶片作为一个整体进行研究。但实际上叶片具有复杂且高度有机的三维结构, 而且叶片不同组织细胞其光合特性存在明显差异, 因此整个叶片的光合功能不是各组织细胞结构和功能的简单叠加。从三维角度理解叶片结构、光传递、光合机构组分以及光合功能有助于理解各组织细胞的协调及配合。全面解析叶片光合作用机理, 也为植物高光效评价、定向改良和利用提供理论依据。

## 1 叶片结构的三维特性

### 1.1 叶片的结构特征

前人对光合作用开展了广泛深入的研究, 迄今已有200余年的历史。一般情况下, 根据植物叶片结构特征可将叶片分为等面叶和异面叶。但无论是异面叶还是等面叶, 其结构基本都由表皮、气孔、叶肉组织和叶脉等构成。叶片表皮包括表皮细胞、气孔器和乳突等结构。为减少叶片蒸腾和维持叶片水分平衡, 很多植物的气孔主要分布于叶片远轴侧; 或者在叶片两侧均

有分布, 远轴侧较多。在表皮下分布的栅栏和海绵组织都属于叶肉。对异面叶来说, 栅栏组织位于叶片近轴侧, 为柱状细胞, 排列紧密; 其叶绿体趋向于阳生, 基粒垛叠程度较低(Iermak et al., 2016; Wientjes et al., 2017)。而海绵组织位于远轴侧, 细胞呈球状或不规则形状, 且分布松散; 其叶绿体趋向于阴生, 基粒垛叠程度高(Iermak et al., 2016; Wientjes et al., 2017)。

叶脉也是叶片的主要结构, 它在叶片中形成一个运输系统以保证充足的水分供应; 且叶脉密度与光合速率有关(宋丽清等, 2015)。一般情况下, 叶脉通常被维管束鞘所包围, 有些叶片还含有维管束鞘延伸结构(bundle sheath extension, BSE), 如印度榕(*Ficus elastica*)和蓝桉(*Eucalyptus globulus*)。维管束鞘延伸结构是连接维管束与表皮且不含叶绿素的组织, 其可以从上表皮延伸到下表皮。这种叶片被称为异质叶。然而, 很多植物的叶片没有维管束鞘延伸结构, 这种类型的叶片被称为均质叶。有学者认为, 异质叶存在维管束鞘延伸结构使得叶肉组织的结构和功能发生区域化(Pieruschka et al., 2006; Rodrigues et al., 2017)。

### 1.2 叶片三维结构影响CO<sub>2</sub>气相扩散

叶片的气孔、气孔下腔与细胞间隙相连接, 构成叶片

收稿日期: 2021-11-30; 接受日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金(No.31970350)

\* 通讯作者。E-mail: ldh1166@163.com; jcdao@ibcas.ac.cn

通气系统,从而维持光合和呼吸作用相关的气体交换。叶片气体交换主要指 $\text{CO}_2$ 通过气孔、气孔下腔、细胞间隙、细胞壁和膜扩散到叶绿体的运输过程(Evans and von Caemmerer, 1996)。 $\text{CO}_2$ 在叶片内会向各个方向扩散,到达不同的 $\text{CO}_2$ 羧化位点,因此叶片内部的气体扩散具有三维特性(Ho et al., 2016)。一般认为,叶片内部的气体扩散速度取决于孔隙度的大小。孔隙度小的植物, $\text{CO}_2$ 横向和侧向扩散都很小;而孔隙度大的植物, $\text{CO}_2$ 横向和侧向扩散都较大(Pieruschka et al., 2005; Galmés et al., 2013; Earles et al., 2018)。起初,研究人员认为叶片内部空腔体积是决定孔隙度的关键因素,进而影响 $\text{CO}_2$ 扩散(Pieruschka et al., 2005; Galmés et al., 2013)。此后有研究表明,除孔隙度外,叶片内部气体空间的弯曲度和 $\text{CO}_2$ 扩散的实际路径也是影响侧向扩散的重要因素(Sáez et al., 2017; Earles et al., 2018)。最近的研究表明,叶片内部气体空间的连接性也会影响 $\text{CO}_2$ 扩散(Earles et al., 2018, 2019; Harwood, 2020)。与阴生叶片相比,在强光条件下生长的叶片更厚,有更多的海绵组织以及更大的细胞间隙(Théroux-Rancourt and Gilbert, 2017; Mantuano et al., 2021)。这些特性使阳生叶片内部更有利于 $\text{CO}_2$ 扩散。然而,等面叶植物其叶片细胞排列致密、孔隙度小;叶片两侧均能有效进行光合作用,且气孔在叶片两侧均有分布。玉米(*Zea mays*)作为一种重要的 $\text{C}_4$ 植物也具有等面叶,由于叶肉细胞排列致密,很长时间以来都认为玉米叶片内不仅在垂直方向上 $\text{CO}_2$ 扩散很少,而且侧向气相扩散也很少(Morison and Lawson, 2007)。

因此,所有影响气孔、叶脉、栅栏组织、海绵组织、气孔下腔以及细胞间隙体积和比例的环境因子都可能进而影响光合作用(Brodersen and Vogelmann, 2010)。

## 2 光合机构组分的三维特性

除叶片结构外,植物光合机构均由叶绿体色素、电子传递和碳同化酶以及膜系统等构成;此外,不同植物或同一植物在不同环境条件下光合机构各组分的含量或活性不同(程建峰等, 2010; Eckstein et al., 2012)。更重要的是,同一叶片不同组织细胞间的叶绿体色素、电子传递和碳同化酶等光合机构组分也存

在巨大差异(Peguero-Pina et al., 2009)。

### 2.1 叶片内叶绿素的三维分布

叶绿素是光合机构的重要组成部分,但其在叶片内部的分布不均一。一般情况下,栅栏组织中叶绿素含量比海绵组织高(Terashima and Saeki, 1983; Cui et al., 1991)。在靠近近轴侧的栅栏组织中叶绿素含量较低,随着与近轴侧距离增大,栅栏组织内叶绿素含量逐步升高;在靠近远轴侧的海绵组织中叶绿素含量较低,随着与远轴侧距离增大,海绵组织内叶绿素含量也逐渐升高(Vogelmann and Evans, 2002; Peguero-Pina et al., 2009; Slattey et al., 2016)。同时,叶绿素作为捕光色素复合体,在叶绿体内主要与光系统II(PSII)和光系统I(PSI)相连。PSII是高度保守的多亚基色素蛋白复合体,它主要包括反应中心(RCs)、叶绿素 $a/b$ 捕光天线复合物(LHC)和放氧复合物(OEC)。与PSII相连的色素天线蛋白复合体(LHCII)主要以三聚体形式存在,每个单体中含有8个Chla和6个Chlb。高等植物PSI复合物中有168个叶绿素分子,其中光反应中心有100个左右,外周LHCI中有57个(45Chla+12Chlb),类胡萝卜素至少有20个(Amunts et al., 2007; Qin et al., 2015)。PSII和PSI的叶绿素数量根据光强和光质进行调整。强光下,植物会减少PSII捕光天线的数量;弱光或远红外光较多的条件下,植物会增加PSII捕光天线的数量,与PSI的光能捕获保持协调(Wientjes et al., 2017)。

### 2.2 叶片内电子传递组分的三维分布

一般情况下,栅栏组织叶绿体的光系统反应中心(PSII和PSI)、质体醌(plastoquinone, PQ)、细胞色素(Cytf)、质体蓝素(plastocyanin, PC)和铁氧还蛋白(ferredoxin, Fd)等主要电子传递体及碳同化酶的含量均高于海绵组织(Terashima and Inoue, 1985a; Iermak et al., 2016; Wientjes et al., 2017)。从叶绿体内部来看,PSII分布于基粒垛叠膜的中心区域,PSI与ATP合成酶分布于基粒垛叠区的边缘和间质片层,而细胞色素 $b_6f$ 复合体在这两处均有分布(Iermak et al., 2016; Wientjes et al., 2017)。强光下,植物会减少PSII的数量,降低PSII与PSI的比例;而弱光下,植物会增加PSII的数量,减少PSI含量,提高PSII与PSI的比例,从而通过调节光合机构的组分适应不同光强环

境(Wientjes et al., 2017; Rogowski et al., 2019)。与C<sub>3</sub>植物不同, NADP-ME类型的C<sub>4</sub>植物, 如高粱(*Sorghum bicolor*)和玉米的维管束鞘细胞中不含PSII, 仅有PSI, 这类细胞中缺少线性电子传递。不过, NAD-ME类型的C<sub>4</sub>植物(如苋属植物)维管束鞘细胞同时含有PSII和PSI (Rogowski et al., 2019)。

### 2.3 叶片内碳同化相关酶的三维分布

核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)是光合作用中固定CO<sub>2</sub>的关键酶, 由8个大亚基和8个小亚基组成。在C<sub>3</sub>植物叶片中, Rubisco含量占叶片可溶性蛋白的50%–70%。研究表明, Rubisco在叶片中的分布不均一。一般情况下, 栅栏组织叶肉细胞中Rubisco蛋白的丰度比海绵组织叶肉细胞中高; 而且从叶片近轴侧开始Rubisco含量先逐渐升高, 然后随着叶肉深度增加逐渐降低(Evans and Vogelmann, 2003)。对于C<sub>4</sub>植物来说, 碳同化分2步完成, 首先在叶肉细胞中进行CO<sub>2</sub>的初步同化; 其次, 在维管束鞘细胞中完成碳水化合物最终合成。与此对应, 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)分布在叶肉细胞, 而Rubisco位于维管束鞘细胞。2种结构和2种酶的有机配合共同完成CO<sub>2</sub>同化。

## 3 叶片内光传递和吸收的三维特性

光透过叶片表皮, 在叶片内部经过一系列的折射、反射及散射, 进入不同叶肉细胞的叶绿体类囊体膜上, 最终被色素分子捕获。在此过程中, 植物光合器官结构和组分的三维差异会影响叶片内部的光传递和吸收。

### 3.1 叶片内光传递和吸收具有不均一性

前人曾把叶片简化并假想成具有一定厚度且均一的溶液, 其内部光传递和吸收规律符合Beer-Lambert定律。但由于叶片内部结构和叶绿素分布都不均一, 且不同色素分子对各波长光的吸收系数也存在明显差异, 故叶片内光传递和吸收远比Beer-Lambert定律复杂(Buckley and Farquhar, 2004)。因此, 叶片内部光传递和吸收也不均一(Terashima et al., 2009; Tholen et al., 2012)。

### 3.2 叶片内光传递和吸收三维特性的成因

叶片的吸收光谱在可见光区域(400–700 nm)主要由捕光色素的含量与分布决定, 而近红外区域的吸收谱(800–1 300 nm)则与叶片结构相关。研究发现, 透镜状的表皮细胞对于垂直入射进来的平行光具有汇聚作用, 而对于倾斜的平行光和散射光, 其汇聚效果极小(Vogelmann et al., 1996)。研究表明, 栅栏组织和海绵组织的光学性质不同。柱状栅栏组织细胞使光散射最小化, 有助于光传递到叶片内部深处, 且栅栏组织第1层细胞的光吸收普遍较高; 而海绵组织具有更强的散射光吸收能力, 有利于捕获散射光(Peguero-Pina et al., 2009)。一般情况下, 光在叶片内衰减速度很快, 当光传递到叶片栅栏组织厚度的一半时, 光强已降低60%左右; 当光穿透栅栏组织时, 光强仅为入射光强的10%左右(Xiao et al., 2016; Evans et al., 2017; Thérout-Rancourt and Gilbert, 2017; Hollo-way-Phillips, 2019)。从吸收光谱上看, 叶绿素对远红光和绿光吸收很少, 而对红光和蓝光的吸收峰明显较高。但是, 由于红、蓝光主要被叶片浅层细胞的叶绿素吸收, 因此, 随着叶肉深度的增加, 红、蓝光的强度显著减弱。此时, 绿光比红光或蓝光更能驱动CO<sub>2</sub>固定(Evans and Vogelmann, 2003; Terashima et al., 2009; Smith et al., 2017; Evans et al., 2017)。完整叶片的吸收光谱与叶绿素提取液的吸收光谱有非常明显的差异。这也是植物光合作用能够吸收不同光谱组分的重要原因(王晓琳等, 2012)。

实际上, 细胞层面的叶绿体排列朝向和运动也会影响叶片内部的光环境。水稻(*Oryza sativa*)叶片中叶绿体在朝向细胞壁方向上(包括垂直和平行于光的细胞壁)的覆盖率高达90% (Sage and Sage, 2009), 但在菠菜(*Spinacia oleracea*)中叶绿体对细胞壁的覆盖率仅60%左右(Evans et al., 1994; Evans and Loreto, 2000; Xiao et al., 2016)。两者的差异直接影响光在叶片内的传播与吸收。此外, 在弱光条件下, 叶绿体可以移动至叶肉细胞的上表面或下表面, 在垂直于光的方向上排列, 尽可能增加光吸收; 而在强光下, 叶绿体则转移到叶肉细胞的侧面, 在平行于光的方向上排列, 从而降低光吸收, 减轻强光导致的光抑制和光损伤(Peguero-Pina et al., 2009)。

维管束鞘延伸组织(bundle sheath extension, BSE)也可能影响光的传递和吸收。具有典型异质叶

的植物, 其叶片在第2和3级脉周围有明显的BSE结构, 有时在次级脉周围也出现BSE。很长时间以来, 人们一直认为维管束鞘延伸主要是起机械支撑和水分运输的作用。但最新研究表明, 在异质叶中BSE能够将叶肉进行区域化(Rodrigues et al., 2017)。而且, 由于BSE在叶片上产生透明区域, 有助于可见光深入叶肉内层。还有研究表明, BSE占比越高越有利于叶片底层海绵组织细胞的光吸收(Karabourniotis et al., 2000; Nikolopoulos et al., 2002; Xiao et al., 2016), 进而可能改善叶片的光合性能(Nikolopoulos et al., 2002; Liakoura et al., 2009)。因此, 有学者认为, 具有异质叶的植物能够比具有均质叶的植物表现出更高的光合速率。

## 4 叶片光合功能的三维特性

与叶片结构、组分、光传递和吸收三维特征相适应, 光合功能也有显著的三维特性。主要表现在PSII光化学效率、电子传递活性以及CO<sub>2</sub>气相扩散和碳同化等方面。

### 4.1 叶肉组织光化学效率的差异

叶片近轴侧叶肉细胞(栅栏薄壁组织)的PSII光化学活性比远轴侧(海绵薄壁组织)高(Oguchi et al., 2011; Wu et al., 2020)。研究表明, 蓝光、红光和绿光三者相比, 使用穿透能力更强的激发光(如绿光)能够激发更多的细胞, 测定到的PSII光化学效率值更高。这一现象在强光处理叶片中发生光抑制时更明显。此时, 用蓝光测定活体叶片的最大光化学效率较低; 与蓝色测量光相比, 使用红色和绿色测量光测定活体叶片的最大光化学效率值较高(Oguchi et al., 2011)。多数情况下仅在叶片浅层细胞发生光抑制, 或者光化学效率下降, 而较深层次的细胞下降程度较轻, 甚至可能完全不发生变化(Oguchi et al., 2011)。所以, 使用叶绿素荧光测定光化学效率表征强光敏感性和光抑制时, 测量光光质的选择直接影响测量结果和光合功能分析。

### 4.2 叶肉组织电子传递活性的差异

离体研究表明, 栅栏组织的电子传递速率比海绵组织高。在栅栏组织与海绵组织中, PSII电子传递活性仅相差20%左右, 甚至更小; 而两者PSI电子传递活性差异较大(相差约50%) (Terashima and Inoue, 1985b)。在NADP-ME型C<sub>4</sub>植物中, 叶肉细胞具有完

整的基粒(同时含有PSII和PSI)以及完整的光合电子传递。然而, 在维管束鞘细胞内缺少基粒和类囊体垛叠, 导致PSII数量减少, 进而导致线性电子传递活性(linear energy transfer, LET)降低, 甚至为零。一般认为, 维管束鞘细胞主要发生依赖PSI的环式电子传递(cyclic electron transport, CET) (Laisk and Edwards, 1998)。此后, Rogowski等(2019)研究了光照强度对玉米PSI活性的影响, 认为维管束鞘叶绿体中PSI的活性可能高于叶肉细胞。

### 4.3 叶片内碳同化的三维特性

早期研究表明, 叶片内的碳固定梯度与光强梯度不完全吻合。光强梯度在叶片内呈指数下降, 而碳固定主要发生在叶片的中间部位(Nishio et al., 1993; Sun and Nishio, 2001)。但在特定条件下, 海绵组织碳固定占总碳固定的40%左右(Nishio et al., 1993)。除光强外, 单叶的光合速率主要与2个因素有关, 即叶绿体中的CO<sub>2</sub>浓度和Rubisco含量(Terashima et al., 2006; Drag et al., 2020)。由于在叶片栅栏组织的中部Rubisco含量相对较高, 此时光合速率可能主要取决于CO<sub>2</sub>浓度。

作为光合作用气体交换通道的气孔大多分布在叶片远轴侧, 或远轴侧气孔密度远高于近轴侧, 这导致叶片内部的CO<sub>2</sub>浓度在远轴侧高于近轴侧, 存在明显的浓度梯度。大气CO<sub>2</sub>经由气孔、气孔下腔、细胞壁、细胞或叶绿体膜和间质进入羧化位点。由于气相扩散速度远高于液相扩散速度, 植物从水生到陆生的进化过程中CO<sub>2</sub>通过气孔下腔和细胞间隙扩散到叶绿体羧化位点的阻力能够降低约10 000倍。因此, 植物叶片维持高的气相扩散速率是提高光合效率的重要机制(Sáez et al., 2017; Earles et al., 2018; Barbosa et al., 2018)。

一般认为, CO<sub>2</sub>进入叶片后可以沿叶片的垂直方向(浓度梯度)向叶肉组织和羧化位点扩散, 即CO<sub>2</sub>的横向扩散。因此, 海绵组织或者距离叶片远轴侧较近的栅栏组织细胞有较充裕的CO<sub>2</sub>作为底物; 相反, 距离远轴侧越远的栅栏组织细胞其CO<sub>2</sub>浓度较低, 光合碳同化很可能受到CO<sub>2</sub>限制。由于C<sub>3</sub>植物叶片内光照强度衰减与CO<sub>2</sub>浓度梯度往往相反, 这导致叶片最大碳同化量发生在叶片中部(Nishio et al., 1993; Peguero-Pina et al., 2009; Ho et al., 2016)。这也与叶

片中部的叶绿素含量较高相一致(Cui et al., 1991; Smith et al., 1997; Johnson et al., 2005)。综上, 从气孔下腔到叶绿体的横向气相扩散在光合碳同化中发挥非常重要的作用。

然而, 也有研究表明, 细胞间隙中的侧向气体扩散可能也起重要作用, 或者比目前普遍认为的更有效(Pieruschka et al., 2010; Maai et al., 2011)。Williams (1948)观察到, 在叶片内部, 即使当细胞间隙被大叶脉分开时, 单个细胞间隙的气压变化也会影响相邻细胞间隙的气压。因此, 他认为叶片在解剖结构上允许较大距离的横向气体扩散。此后, 通过气体交换的方法, 证明在均质叶蚕豆(*Vicia faba*)中能发生CO<sub>2</sub>侧向扩散; CO<sub>2</sub>侧向扩散可支持邻近区域的光合功能(Jahnke and Krewitt, 2002; Pieruschka et al., 2005, 2010)。虽然有学者认为, 异质叶的维管束鞘延伸结构导致叶片发生光合功能区域化, 并限制CO<sub>2</sub>侧向扩散(Pieruschka et al., 2006), 但是, 当人为诱导较大的CO<sub>2</sub>压差后, 异质叶中也存在侧向扩散, 并明显影响光合速率测定(Morison and Lawson, 2007)。

传统观点认为, C<sub>4</sub>植物玉米叶片横向和侧向的CO<sub>2</sub>气相扩散均很小。前人使用堵塞气孔并结合荧光成像的方法进行研究, 认为玉米的侧向CO<sub>2</sub>扩散速度较慢且有限(Morison and Lawson, 2007)。实际上, 当叶片暴露在均一的光环境时, 即使叶片局部封闭气孔, 由于存在光合作用, 其与相邻区域的CO<sub>2</sub>可能都保持在较低水平, 两区域间的CO<sub>2</sub>压差可能很小。这可能是该条件下导致玉米叶片侧向扩散程度较小的原因。我们近期的研究表明, 对于叶片结构非常致密的C<sub>4</sub>植物(包括高粱和玉米), 在特定条件下也存在一定程度的CO<sub>2</sub>侧向扩散, 且侧向扩散可随CO<sub>2</sub>压差增大而在较长距离上发生, 进而影响光合速率的测定(未发表数据)。

不过, C<sub>4</sub>植物主要在叶肉细胞通过C<sub>4</sub>途径将CO<sub>2</sub>进行初步固定, 此后通过胞间连丝运输至维管束鞘细胞, 使其局部CO<sub>2</sub>浓度远超周围细胞, 抑制光呼吸, 进而提高光合速率(Hatch, 1992; Romanowska and Drozak, 2006)。因此, 侧向扩散对C<sub>4</sub>植物很可能仅为一种应急或者补充途径。

此外, 叶肉导度是用于表征CO<sub>2</sub>从细胞间隙进入叶绿体直至被Rubisco固定这一路径的阻力, 也是限

制叶片叶绿体中CO<sub>2</sub>浓度, 进而影响叶片光合速率的重要因素(Evans and von Caemmerer, 1996; Evans et al., 2009)。该因素主要受细胞壁和质膜组分以及细胞内含物和含水量的影响(Evans et al., 2009; Buckley, 2015)。

## 5 研究技术进展

叶片具有高度复杂的结构, 虽然目前植物叶片结构的量化研究较多, 但主要方法还是基于离体显微技术分析叶片结构特征(巩玥等, 2014)。MiCro-CT扫描技术可用于快速测量活体叶片结构, 能够快速量化叶片的三维结构, 且操作简单(Théroux-Rancourt and Gilbert, 2017)。在此基础上的3D成像使得对叶片内部特征进行大量、精确测量和生物物理建模成为可能, 这为深入理解叶片光合功能提供了技术支持(Scoffoni et al., 2017; Pierantoni et al., 2019)。因此, 叶片结构三维成像相关技术的发展和有助于研究叶片三维结构变化及其对光合功能的影响。

气体交换测定作为研究叶片光合功能的重要技术日益受到重视。由于叶片内部结构具有孔隙度, 因而会有横向及侧向气体扩散, 这导致通过气体交换测定的光合速率可能较真实值偏低(Morison and Lawson, 2007)。因此, 对传统技术方法的校正或发展新的气体交换测定技术迫在眉睫。

叶绿素荧光分析是检测光合作用光能吸收、捕获、电子传递甚至碳同化的重要方法。由于其操作简单、无损害, 且测定仪器便于携带并可大量测定而备受欢迎(Strasser et al., 2000; Baker, 2008)。最近, 我们初步证明通过叶绿素荧光可以检测叶片PSII功能的三维差异(Wu et al., 2020)。但在测量过程中荧光强度及变化会受到叶片内光衰减速度的影响。当叶片较薄、结构相对简单或叶绿素含量较低时, 光衰减很小, 测定结果相对可靠(DeBlasio et al., 2003; Klughammer and Schreiber, 2015)。近期, 使用多光谱荧光动态显微成像系统(fluorescence kinetic microscope, FKM)检测植物叶片横切面上的光合信息, 可以减少叶片内光照梯度对荧光测定的影响, 有助于分析不同组织细胞的光吸收、捕获、电子传递和光合活性等光合特性(Lichtenberg et al., 2017), 进而解析光合功能的三维信息。

## 6 展望

已有大量离体研究证明叶片结构、组分、光传递和吸收以及光合功能都存在巨大的组织差异。三维层面不同组织细胞的有机协作很可能是植物叶片维持光合功能并适应环境的重要策略。基于技术的发展, 解决这些问题正在或即将成为可能。从三维角度分析活体叶片的光合特性有助于深化对光合作用及其机制的理解, 也将为改善作物光合效率提供理论依据。

## 参考文献

- 程建峰, 陈根云, 沈允钢 (2010). 神农架林区不同类型植物的叶片特征与光合性能研究. *生态环境学报* **19**, 165–171.
- 巩玥, 陈海苗, 姜闯道, 石雷 (2014). 植物叶片解剖结构的量化及其在C<sub>4</sub>植物高粱中的应用. *植物学报* **49**, 173–182.
- 宋丽清, 胡春梅, 侯喜林, 石雷, 刘立安, 杨景成, 姜闯道 (2015). 高粱、紫苏叶脉密度与光合特性的关系. *植物学报* **50**, 100–106.
- 王晓琳, 李志强, 姜闯道, 石雷, 邢全, 刘立安 (2012). 散射光和直射光对高粱叶片光合功能的影响. *作物学报* **38**, 1452–1459.
- Amunts A, Drory O, Nelson N (2007). The structure of a plant photosystem I supercomplex at 3.4 Å resolution. *Nature* **447**, 58–63.
- Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 89–113.
- Barbosa C, Pugnaire FI, Peroni N, Castellani TT (2018). Warming effects on the colonization of a coastal ecosystem by *Furcraea foetida* (Asparagaceae), a clonal invasive species. *Plant Ecol* **219**, 813–821.
- Brodersen CR, Vogelmann TC (2010). Do changes in light direction affect absorption profiles in leaves? *Funct Plant Biol* **37**, 403–412.
- Buckley TN (2015). The contributions of apoplastic, symplastic and gas phase pathways for water transport outside the bundle sheath in leaves. *Plant Cell Environ* **38**, 7–22.
- Buckley TN, Farquhar GD (2004). A new analytical model for whole-leaf potential electron transport rate. *Plant Cell Environ* **27**, 1487–1502.
- Cui M, Vogelmann TC, Smith WK (1991). Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. *Plant Cell Environ* **14**, 493–500.
- DeBlasio SL, Mullen JL, Luesse DR, Hangarter RP (2003). Phytochrome modulation of blue light-induced chloroplast movements in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **133**, 1471–1479.
- Drag DW, Slattery R, Siebers M, DeLucia EH, Ort DR, Bernacchi CJ (2020). Soybean photosynthetic and biomass responses to carbon dioxide concentrations ranging from pre-industrial to the distant future. *J Exp Bot* **71**, 3690–3700.
- Earles JM, Buckley TN, Brodersen CR, Busch FA, Cano FJ, Choat B, Evans JR, Farquhar GD, Harwood R, Huynh M, John GP, Miller ML, Rockwell FE, Sack L, Scoffoni C, Struik PC, Wu A, Yin XY, Barbour MM (2019). Embracing 3D complexity in leaf carbon-water exchange. *Trends Plant Sci* **24**, 15–24.
- Earles JM, Thérout-Rancourt G, Roddy AB, Gilbert ME, McElrone AJ, Brodersen CR (2018). Beyond porosity: 3D leaf intercellular airspace traits that impact mesophyll conductance. *Plant Physiol* **178**, 148–162.
- Eckstein A, Zięba P, Gabryś H (2012). Sugar and light effects on the condition of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana* cultured *in vitro*. *J Plant Growth Regul* **31**, 90–101.
- Evans JR, Kaldenhoff R, Genty B, Terashima I (2009). Resistances along the CO<sub>2</sub> diffusion pathway inside leaves. *J Exp Bot* **60**, 2235–2248.
- Evans JR, Loreto F (2000). Acquisition and diffusion of CO<sub>2</sub> in higher plant leaves. In: Leegood RC, Sharkey TD, von Caemmerer S, eds. *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Dordrecht: Kluwer Academic. pp. 321–351.
- Evans JR, Morgan PB, Von Caemmerer S (2017). Light quality affects chloroplast electron transport rates estimated from Chl fluorescence measurements. *Plant Cell Physiol* **58**, 1652–1660.
- Evans JR, Vogelmann TC (2003). Profiles of <sup>14</sup>C fixation through spinach leaves in relation to light absorption and photosynthetic capacity. *Plant Cell Environ* **26**, 547–560.
- Evans JR, Von Caemmerer S (1996). Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiol* **110**, 339–346.
- Evans JR, Von Caemmerer S, Setchell BA, Hudson GS (1994). The relationship between CO<sub>2</sub> transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco. *Australian J Plant Physiol* **21**, 475–495.
- Galmés J, Ochogavía JM, Gago J, Roldán EJ, Cifre J, Conesa MÀ (2013). Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters. *Plant Cell Environ* **36**, 920–935.
- Harwood R, Goodman E, Gudmundsdottir M, Huynh M,

- Musulin Q, Song M, Barbour MM** (2020). Cell and chloroplast anatomical features are poorly estimated from 2D cross-sections. *New Phytol* **225**, 2567–2578.
- Hatch MD** (1992). C<sub>4</sub> photosynthesis: an unlikely process full of surprises. *Plant Cell Physiol* **33**, 333–342.
- Ho QT, Berghuijs HNC, Watté R, Verboven P, Herremans E, Yin XY, Retta MA, Aernouts B, Saeys W, Helfen L, Farquhar GD, Struik PC, Nicolai BM** (2016). Three-dimensional microscale modelling of CO<sub>2</sub> transport and light propagation in tomato leaves enlightens photosynthesis. *Plant Cell Environ* **39**, 50–61.
- Holloway-Phillips M** (2019). Illuminating photosynthesis in the mesophyll of diverse leaves. *Plant Physiol* **180**, 1256–1258.
- Iermak I, Vink J, Bader AN, Wientjes E, van Amerongen H** (2016). Visualizing heterogeneity of photosynthetic properties of plant leaves with two-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. *Biochim Biophys Acta-Bioenerg* **1857**, 1473–1478.
- Jahnke S, Krewitt M** (2002). Atmospheric CO<sub>2</sub> concentration may directly affect leaf respiration measurement in tobacco, but not respiration itself. *Plant Cell Environ* **25**, 641–651.
- Johnson DM, Smith WK, Vogelmann TC, Brodersen CR** (2005). Leaf architecture and direction of incident light influence mesophyll fluorescence profiles. *Am J Bot* **92**, 1425–1431.
- Karabourniotis G, Bornman JF, Nikolopoulos D** (2000). A possible optical role of the bundle sheath extensions of the heterobaric leaves of *Vitis vinifera* and *Quercus coccifera*. *Plant Cell Environ* **23**, 423–430.
- Klughammer C, Schreiber U** (2015). Apparent PSII absorption cross-section and estimation of mean PAR in optically thin and dense suspensions of *Chlorella*. *Photosynth Res* **123**, 77–92.
- Laisk A, Edwards GE** (1998). Oxygen and electron flow in C<sub>4</sub> photosynthesis: mehler reaction, photorespiration and CO<sub>2</sub> concentration in the bundle sheath. *Planta* **205**, 632–645.
- Liakoura V, Fotelli MN, Rennenberg H, Karabourniotis G** (2009). Should structure-function relations be considered separately for homobaric vs. heterobaric leaves? *Am J Bot* **96**, 612–619.
- Lichtenberg M, Trampe ECL, Vogelmann TC, Kühl M** (2017). Light sheet microscopy imaging of light absorption and photosynthesis distribution in plant tissue. *Plant Physiol* **175**, 721–733.
- Maai E, Miyake H, Taniguchi M** (2011). Differential positioning of chloroplasts in C<sub>4</sub> mesophyll and bundle sheath cells. *Plant Signal Behav* **6**, 1111–1113.
- Mantuano D, Ornellas T, Aidar MPM, Mantovani A** (2021). Photosynthetic activity increases with leaf size and intercellular spaces in an allomorphic lianescent aroid *Rhodospatha oblongata*. *Funct Plant Biol* **48**, 557–566.
- Morison JIL, Lawson T** (2007). Does lateral gas diffusion in leaves matter? *Plant Cell Environ* **30**, 1072–1085.
- Nikolopoulos D, Liakopoulos G, Drossopoulos I, Karabourniotis G** (2002). The relationship between anatomy and photosynthetic performance of heterobaric leaves. *Plant Physiol* **129**, 235–243.
- Nishio JN, Sun J, Vogelmann TC** (1993). Carbon fixation gradients across spinach leaves do not follow internal light gradients. *Plant Cell* **5**, 953–961.
- Oguchi R, Douwstra P, Fujita T, Chow WS, Terashima I** (2011). Intra-leaf gradients of photoinhibition induced by different color lights: implications for the dual mechanisms of photoinhibition and for the application of conventional chlorophyll fluorometers. *New Phytol* **191**, 146–159.
- Peguero-Pina JJ, Gil-Pelegrín E, Morales F** (2009). Photosystem II efficiency of the palisade and spongy mesophyll in *Quercus coccifera* using adaxial/abaxial illumination and excitation light sources with wavelengths varying in penetration into the leaf tissue. *Photosynth Res* **99**, 49–61.
- Pierantoni M, Brumfeld V, Addadi L, Weiner S** (2019). A 3D study of the relationship between leaf vein structure and mechanical function. *Acta Biomater* **88**, 111–119.
- Pieruschka R, Huber G, Berry JA** (2010). Control of transpiration by radiation. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 13372–13377.
- Pieruschka R, Schurr U, Jahnke S** (2005). Lateral gas diffusion inside leaves. *J Exp Bot* **56**, 857–864.
- Pieruschka R, Schurr U, Jensen M, Wolff WF, Jahnke S** (2006). Lateral diffusion of CO<sub>2</sub> from shaded to illuminated leaf parts affects photosynthesis inside homobaric leaves. *New Phytol* **169**, 779–788.
- Qin XC, Suga M, Kuang TY, Shen JR** (2015). Structural basis for energy transfer pathways in the plant PSI-LHCI supercomplex. *Science* **348**, 989–995.
- Rodrigues TM, Amaro ACE, Boaro CSF, Mendes KR, de Melo Silva SC, Júnior VF, Machado SR** (2017). Four distinct leaf types in the Brazilian cerrado, based on bundle sheath extension morphology. *Botany* **95**, 1171–1178.
- Rogowski P, Wasilewska-Dębowska W, Krupnik T,**

- Drożak A, Zienkiewicz M, Krysiak M, Romanowska E** (2019). Photosynthesis and organization of maize mesophyll and bundle sheath thylakoids of plants grown in various light intensities. *Environ Exp Bot* **162**, 72–86.
- Romanowska E, Drożak A** (2006). Comparative analysis of biochemical properties of mesophyll and bundle sheath chloroplasts from various subtypes of  $C_4$  plants grown at moderate irradiance. *Acta Biochim Pol* **53**, 709–719.
- Sáez PL, Bravo LA, Cavieres LA, Vallejos V, Sanhueza C, Font-Carrascosa M, Gil-Pelegrin E, Peguero-Pina JJ, Galmés J** (2017). Photosynthetic limitations in two antarctic vascular plants: importance of leaf anatomical traits and Rubisco kinetic parameters. *J Exp Bot* **68**, 2871–2883.
- Sage TL, Sage RF** (2009). The functional anatomy of rice leaves: implications for refixation of photorespiratory  $CO_2$  and efforts to engineer  $C_4$  photosynthesis into rice. *Plant Cell Physiol* **50**, 756–772.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen CR, Townes SV, John GP, Bartlett MK, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L** (2017). Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiol* **173**, 1197–1210.
- Slaterry RA, Grennan AK, Sivaguru M, Sozzani R, Ort DR** (2016). Light sheet microscopy reveals more gradual light attenuation in light-green versus dark-green soybean leaves. *J Exp Bot* **67**, 4697–4709.
- Smith HL, McAusland L, Murchie EH** (2017). Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes. *J Exp Bot* **68**, 2099–2110.
- Smith WK, Vogelmann TC, DeLucia EH, Bell DT, Shepherd KA** (1997). Leaf form and photosynthesis. *BioScience* **47**, 785–793.
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M** (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P, eds. Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation. London: Taylor and Francis. pp. 445–483.
- Sun JD, Nishio JN** (2001). Why abaxial illumination limits photosynthetic carbon fixation in spinach leaves. *Plant Cell Physiol* **42**, 1–8.
- Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow WS, Oguchi R** (2009). Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiol* **50**, 684–697.
- Terashima I, Hanba YT, Tazoe Y, Vyas P, Yano S** (2006). Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic  $CO_2$  diffusion. *J Exp Bot* **57**, 343–354.
- Terashima I, Inoue Y** (1985a). Vertical gradient in photosynthetic properties of spinach chloroplast dependent on intra-leaf light environment. *Plant Cell Physiol* **26**, 781–785.
- Terashima I, Inoue Y** (1985b). Palisade tissue chloroplasts and spongy tissue chloroplasts in spinach: biochemical and ultrastructural differences. *Plant Cell Physiol* **26**, 63–75.
- Terashima I, Saeki T** (1983). Light environment within a leaf I. Optical properties of paradermal sections of *Camellia* leaves with special reference to differences in the optical properties of palisade and spongy tissues. *Plant Cell Physiol* **24**, 1493–1501.
- Thérroux-Rancourt G, Gilbert ME** (2017). The light response of mesophyll conductance is controlled by structure across leaf profiles. *Plant Cell Environ* **40**, 726–740.
- Tholen D, Boom C, Zhu XG** (2012). Opinion: prospects for improving photosynthesis by altering leaf anatomy. *Plant Sci* **197**, 92–101.
- Vogelmann TC, Bornman JF, Yates DJ** (1996). Focusing of light by leaf epidermal cells. *Physiol Plantarum* **98**, 43–56.
- Vogelmann TC, Evans JR** (2002). Profiles of light absorption and chlorophyll within spinach leaves from chlorophyll fluorescence. *Plant Cell Environ* **25**, 1313–1323.
- Wientjes E, Philippi J, Borst JW, Van Amerongen H** (2017). Imaging the photosystem I/photosystem II chlorophyll ratio inside the leaf. *Biochim Biophys Acta-Bioenerg* **1858**, 259–265.
- Williams WT** (1948). The continuity of intercellular spaces in the leaf of *Pelargonium zonale*, and its bearing on recent stomatal investigations. *Ann Bot* **12**, 411–420.
- Wu HY, Dong FQ, Liu LA, Shi L, Zhang WF, Jiang CD** (2020). Dorsoventral variation in photosynthesis during leaf senescence probed by chlorophyll *a* fluorescence induction kinetics in cucumber and maize plants. *Photosynthetica* **58**, 479–487.
- Xiao Y, Tholen D, Zhu XG** (2016). The influence of leaf anatomy on the internal light environment and photosynthetic electron transport rate: exploration with a new leaf ray tracing model. *J Exp Bot* **67**, 6021–6035.

## Advances in Three-dimensional Characteristics of Photosynthesis in Plants

Qingqing Zou<sup>1, 2</sup>, Hanyu Wu<sup>1</sup>, Donghuan Liu<sup>3\*</sup>, Chuangdao Jiang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; <sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; <sup>3</sup>Beijing Botanical Garden, Beijing 100093, China

**Abstract** Photosynthesis is the most important chemical reaction on earth. Though photosynthesis in plant has been extensively studied, little attention has been paid to the photosynthetic function of plant leaves and its' regulation in three-dimensional level. There are obvious three-dimensional characteristics in leaf structure, photosynthetic components, light transmission, and light absorption in leaves, which may greatly affect the CO<sub>2</sub> transport inside leaves, electron transport and carbon assimilation in various mesophyll cells. Unavoidably, the photosynthetic function and its' regulation in leaves may show complex three-dimensional characteristics. Consequently, the analysis of leaf photosynthetic characteristics from the three-dimensional perspective will help us understand the mechanism of photosynthesis and provide a theoretical support to improve photosynthetic efficiency in plants.

**Key words** leaf structure, photosynthesis, light absorption, light transmission, CO<sub>2</sub> transport, three-dimensional structure

**Zou QQ, Wu HY, Liu DH, Jiang CD** (2022). Advances in three-dimensional characteristics of photosynthesis in plants. *Chin Bull Bot* **57**, 250–258.

---

\* Authors for correspondence. E-mail: ldh1166@163.com; jcdao@ibcas.ac.cn

(责任编辑: 白羽红)