

不同光质对烟草叶片组织结构及Rubisco羧化酶活性和*rbc*、*rca*基因表达的影响

柯学¹, 李军营^{2,*}, 徐超华¹, 龚明^{1,**}

¹云南师范大学生命科学学院, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室, 昆明650500; ²云南省烟草农业科学研究院, 云南玉溪653100

摘要: 通过对烟草植株覆盖白、红、黄、蓝、紫色滤膜获得不同光质, 研究了烟草叶片在7~70 d的生长发育期内, 不同光质处理对烟叶组织结构特征、核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)羧化酶活性、Rubisco基因(*rbc*)表达及其活化酶(Rca)基因(*rca*)表达的影响。结果表明, 与黄膜处理下生长的烟叶相比, 红、蓝、紫膜处理下生长的烟叶有较高的叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、栅栏细胞密度和较小的组织空隙率。此外, 红、蓝、紫膜处理的叶片有较高的Rubisco羧化酶活性和净光合速率及较强的*rbc*和*rca*基因表达。实验结果表明不同光质对烟草叶片的组织结构特征有显著影响, 光质可能通过影响Rubisco羧化酶活性进而影响叶片光合效率, 而光质、叶片组织结构和光合效率之间存在某种程度的相互联系。

关键词: 光质; 烟草叶片; 解剖结构; 核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶

Effects of Different Light Quality on Anatomical Structure, Carboxylase Activity of Ribulose 1,5-Biphosphate Carboxylase/Oxygenase and Expression of *rbc* and *rca* Genes in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Leaves

KE Xue¹, LI Jun-Ying^{2,*}, XU Chao-Hua¹, GONG Ming^{1,**}

¹School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education, Key Laboratory of Biomass Energy and Environmental Biotechnology of Yunnan Province, Kunming 650500, China; ²Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Yuxi, Yunnan 653100, China

Abstract: By covering tobacco plants with white, red, yellow, blue and purple films to obtain different light quality, the effects of light quality on anatomical structure, carboxylase activity of ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), and expression of *rbc* and *rca* genes were investigated in tobacco leaves aged from 7 to 70 days. Compared to the leaves grown under yellow film, red, blue and purple film treatments increased the leaf thickness, palisade and spongy parenchyma thickness, and density of palisade cells, but lowered the tissue interspace in the tobacco leaves. In addition, the leaves with red, blue and purple film treatments showed higher carboxylase activity of Rubisco and net photosynthetic rate and stronger expression of *rbc* and *rca* genes than those with yellow film treatment. These results indicated that, different light quality obviously influenced the anatomical structure, carboxylase activity of Rubisco and further photosynthesis efficiency of tobacco leaves, and there was a possible relationship among light quality, anatomical structure and photosynthesis efficiency of tobacco leaves to some extent.

Key words: light quality; tobacco leaves; anatomical structure; ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase

叶片是植物进行光合作用的主要部位, 光质对叶片的形态结构有重要影响(Li和Kubota 2009), 叶片的形态和组织结构又会对光合作用产生间接的作用。已往在光质对叶片生长发育影响的研究中, 主要集中在叶长宽、叶面积、干鲜重等生理指标上(Macedo等2011)。部分研究人员作了关于氮素(徐光辉等2008)、土壤性质(邱立友等2009)、

遮荫(李东霞等2009)、移栽期(刘德育等2005)、揭

收稿 2011-11-03 修定 2012-01-31

资助 国家自然科学基金(30460016)和中国烟草总公司云南省公司科技计划项目(2011YN03和2010YN03)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: gongming63@163.com; Tel: 0871-5941370)。

膜(赵光伟和孙广玉2005)和成熟度(吴国贺等2007)对烟叶组织结构的影响,而有关光质对叶片组织解剖结构的影响未见报道。

核酮糖1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco) (EC 4.1.1.39)是光合作用中固定CO₂的关键酶,由8个大亚基和8个小亚基组成,含量非常丰富,在光合叶片中,占叶片可溶性蛋白的65%。Rubisco活化酶(Rubisco activase, Rca)是核基因编码的可溶性叶绿体酶,类似Rubisco的分子伴侣,在碳同化反应中从稳定的核酮糖1,5-二磷酸(ribulose 1,5-biphosphate, RuBP)分离活化Rubisco。Rubisco和Rca的活性及基因表达对于植物的光合作用非常重要(Whitney和Andrews 2001),现有研究表明,Rca不耐高温(Ristic等2007; Barta等2010),所以高温(可能也包括高光强)下光合效率降低很重要的原因是Rca的失活而使Rubisco钝化;另一方面,高温等产生的氧化胁迫也能使Rubisco降解,如在豌豆叶绿体中发现Rubisco能被活性氧(ROS)降解(Roulin和Feller 1998)。莴苣在臭氧胁迫下,光合效率的降低是由于Rubisco大亚基(*rbcL*)和小亚基基因(*rbcS1*),以及*rca*基因(*rca1*和*rca2*)表达量的减少(Goumenaki等2010)。Ayala-Ochoa等(2004)以及DeRidder和Salvucci (2007)在玉米中发现,Rubisco和Rca两种酶基因表达的调控是转录后调控,并且白天和夜晚可能具有不同的表达模式。

在光质影响光合作用相关酶方面,Wang等(2009)的实验发现不同光质对黄瓜Rubisco活性有影响,白、蓝、紫光处理的光合速率和Rubisco活性较高,而红、黄、绿光处理的均较低。Cai等(2010)利用基因沉默控制烟草中*rca*的表达水平,不仅影响CO₂固定,同时也影响光合电子传递和叶绿体的发育。但是不同光质对烟草Rubisco活性以及*rbc*和*rca*基因表达的影响尚不清楚,有待更多的实验证据。

我们前期的工作表明不同光质对烟草叶片生长及光合作用(柯学等2011)、抗氧化系统活性(文锦芬等2011)和类半胱氨酸蛋白酶活性及其基因表达(赵娟等2011)都有显著的影响。本文在前期工作的基础上,通过对烟草植株覆盖白、红、黄、蓝、紫色滤膜获得不同光质,以烟草自下而上第11片叶为实验材料,研究了该叶片在7~70 d的生长发育期

中不同光质处理对叶片组织结构特征、Rubisco羧化酶活性和Rubisco基因(*rbc*)及其活化酶基因(*rca*)表达的影响,以期揭示光质对烟草叶片组织结构和光合作用相关酶的影响,最终为探索光质在云南烤烟质量形成中的光环境生理基础提供依据。

材料与方法

1 材料

实验材料种植和管理如前文所述(柯学等2011)。

2 方法

2.1 不同光质处理

烟草植株的不同光质处理如前文所述(柯学等2011),通过AvaSpec-2048FT型光纤光谱仪(AVA-NTES, 荷兰)对各滤膜下的光谱数据进行采集,用白色防虫网调整白膜和蓝膜的处理光强,使各滤膜下的透光率为70%左右(与自然光相比),各滤膜下的光强无显著差异。

2.2 石蜡切片及分析

以不同光质处理的烟草自下而上第11片叶为研究对象,叶片0.5 cm长时为取样时间起点,计为0 d,之后分别在7、21、42、56和70 d采集叶片,用湿润滤纸覆盖保湿并迅速带回实验室进行FAA(38%甲醛、冰醋酸和70%酒精按1:1:18体积比混合)固定。取材在上午9:00~10:00进行。取材部位为第5~6一级脉间靠近主脉的位置,组织块为直径1 cm的叶圆片。

FAA固定后,经洗涤、酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、切片、贴片(粘片剂为Haupt)、二甲苯脱蜡、酒精复水、1%番红12 h和1%固绿30 s染色、洗涤和脱水、加拿大树胶封片干燥后,于Zeiss数码显微镜(Axio Imager A2M, 德国)镜检和拍照。

显微照片用图像分析软件Image Tool 3.0处理,测量并计算出上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚,叶厚,栅栏组织/海绵组织比,栅栏细胞密度,以及组织空隙率。每次取样每个处理制作12片以上封片,注意包埋、切片、粘片和封片步骤,保证封片中都包含来源于12株烟草的叶片。经镜检拍照后的每个显微图片各指标测量或计算值不少于12次,再进行统计分析。

2.3 Rubisco羧化酶活性的测定

Rubisco羧化酶活性按照Wang等(2009)的方法

测定。酶粗提时, 将0.3 g叶片于液氮中捣碎, 加入1 mL酶提取液(50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.5, 含0.5 mmol·L⁻¹ EDTA、50 mmol·L⁻¹ MgCl₂、10 mmol·L⁻¹ NaHCO₃) 在冰浴上研磨, 4 °C下离心(20 000×g) 15 min后取上清备用。活性测定时, 1 mL反应体系内含5 mmol·L⁻¹ HEPES-NaOH (pH 8.0)、2 mmol·L⁻¹ MgCl₂、1 mmol·L⁻¹ NaHCO₃、0.1 mmol·L⁻¹ EDTA、0.25 mmol·L⁻¹ DTT、1 U 3-磷酸甘油酸激酶、1 U磷酸肌酸激酶、1 U甘油醛-3-磷酸脱氢酶、0.5 mmol·L⁻¹ ATP、0.015 mmol·L⁻¹ NADH、0.5 mmol·L⁻¹磷酸肌酸、0.06 mmol·L⁻¹ RuBP 和100 μL酶提取液。通过监测NADP在2 min内的OD_{340 nm}减少量, 再根据酶粗提液的蛋白质测定结果计算出酶活性。

2.4 蛋白质含量的测定

参照Bradford (1976)的方法测定酶粗提液中的蛋白质含量。

2.5 净光合速率的测定

净光合速率的测定如前文所述(柯学等2011)。

2.6 RT-PCR

采用TaKaRa公司的RNAiso Plus试剂盒提取RNA, 用TaKaRa公司的RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0试剂盒进行RT-PCR, 操作按说明。内参为*actin*。*rbc* (GenBank登录号30013662, 片段大小362 bp)和*rca* (GenBank登录号19991, 片段大小386 bp)引物序列如下: *rbc*, 5'-TGCCTCATTCCCT-GTTTC-3' (上游), 5'-CTGGGTATGCCTTCTTCG-3' (下游); *rca*, 5'-AGCAGCAGAAATCATCAG-3' (上游), 5'-ATTGTCCAGGGAAGGTAT-3' (下游)。

2.7 数据处理

数据来源于3个实验重复小区, 每个小区每次至少测定3片烟叶。图中数据为平均值±标准误, 用SPSS进行统计分析和*t*检验, 图中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。统计结果用Sigmaplot 10.0作图。

实验结果

1 不同光质处理对烟草叶片组织结构的影响

1.1 不同光质处理对各叶龄烟叶上下表皮厚度及栅栏组织和海绵组织厚度的影响

在5种滤膜处理下生长的烟叶上表皮厚度在9.8~19.9 μm之间, 从叶龄7~56 d, 一直呈逐步增加

的趋势, 之后到70 d, 略有减小(图1-A、图3)。42 d时, 上表皮厚度在16.9~18.5 μm之间, 除了蓝膜处理的显著小于黄膜处理外, 其余处理间均无显著差异(图1-A)。下表皮厚度在9.6~17.6 μm之间, 变化趋势与上表皮类似, 42 d时, 下表皮厚度在15.2~16.3 μm之间, 各处理间无显著差异(图1-B和F)。

各处理下生长烟叶的栅栏组织厚度范围在52.0~145.9 μm之间, 从叶龄21~42 d, 厚度急剧增加, 之后增加缓慢, 从56 d后开始减小(图1-G)。42 d时, 蓝膜处理下烟叶的栅栏组织厚度与白膜处理的相比显著增加了22.2%。红膜处理的显著大于白膜和黄膜处理(图1-C, 图3中W-42 d、R-42 d、Y-42 d), 比白膜的增加了14.2%。白、黄、紫膜处理之间无显著差异(图1-C)。

烟叶生长发育过程中, 各处理烟叶的海绵组织厚度在85.8~187.9 μm之间, 其变化趋势与栅栏组织厚度的变化类似(图1-G和H), 只是从42 d起, 除了黄膜处理外, 其余处理的海绵组织厚度就开始减小。在42和70 d时, 黄膜处理的海绵组织厚度明显小于其他处理(图1-D, 图3中Y-42 d和Y-70 d), 而且从56 d起开始急剧减小。42 d叶龄时, 红膜处理的海绵组织厚度与白膜处理的相比无显著差异, 但是显著大于其他处理(图3中R-42 d), 黄膜处理的比白膜的显著减少22.6%, 白、蓝、紫膜处理之间无显著差异(图1-D)。

1.2 不同光质处理对各叶龄烟叶栅栏组织/海绵组织比、栅栏细胞密度、组织空隙率和叶厚的影响

在5种滤膜处理下生长的烟叶栅栏组织/海绵组织比在0.57~1.11之间变化。白膜处理的比值一直呈增大的趋势; 7~70 d叶龄内, 红、蓝、紫膜下的比值先增大, 从56 d起开始减小; 而黄膜处理的先增大, 到42 d略有减小, 56 d后又增大(图2-E)。42 d时, 红膜处理的栅栏组织/海绵组织比显著小于黄膜和蓝膜处理的, 而与白膜和紫膜的无差异; 黄膜和蓝膜处理的显著高于其他处理; 紫膜处理的也显著高于白膜的(图2-A)。

叶龄7 d时, 各处理烟叶的栅栏细胞还没有分化完全; 叶龄21~42 d, 由于栅栏细胞在持续增大, 栅栏细胞密度随时间大幅降低; 从42 d后降低变慢(图2-F)。42 d时, 红膜和蓝膜处理的栅栏细胞密度显著大于其他处理(图3中R-42 d和B-42 d), 分别比

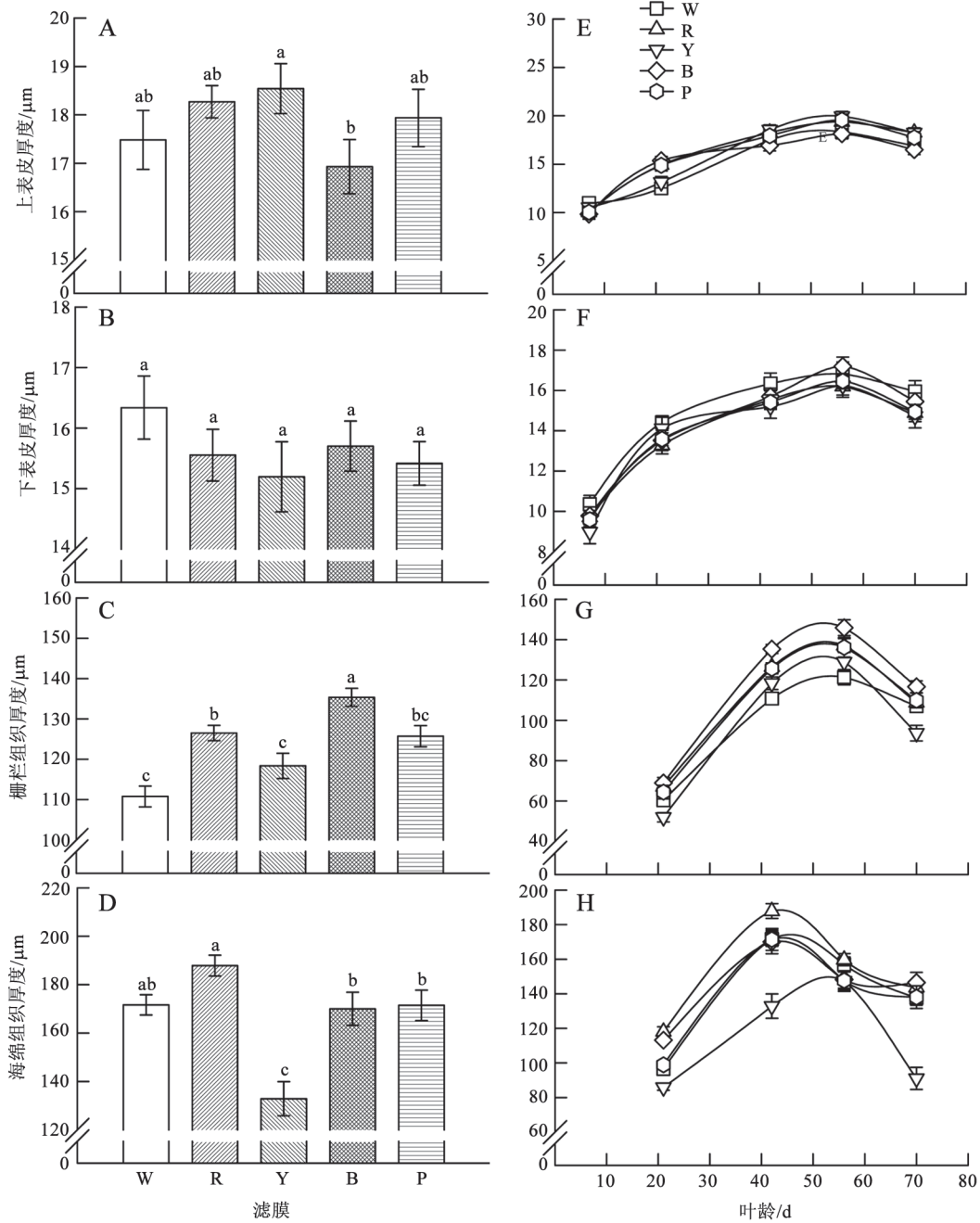


图1 不同光质处理对烟叶上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度的影响
Fig.1 Effects of different light quality on the thickness of upper epidermis, lower epidermis, palisade and spongy parenchyma in tobacco leaves

A~D: 42 d叶龄时的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度; E~H: 烟叶生长过程中上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度的变化。A和E: 上表皮; B和F: 下表皮; C和G: 栅栏组织; D和H: 海绵组织。图中数据为Mean±SE, $n>12$, 不同字母表示差异显著($P<0.05$); 图2同。字母W、R、Y、B、P分别代表白膜、红膜、黄膜、蓝膜和紫膜; 图2、3、5同。

白膜的增加16.8%和15.2% (图2-B)。

各处理下生长的烟叶组织空隙率的变化范围在4.5%~26.6%之间, 叶龄21~42 d时, 叶片组织空隙

率随时间大幅增加, 42~56 d增加变慢。56 d后, 白膜、蓝膜和紫膜处理的均有所减小, 而红膜和黄膜的略有增加, 其中黄膜的增加幅度较大(图2-G,

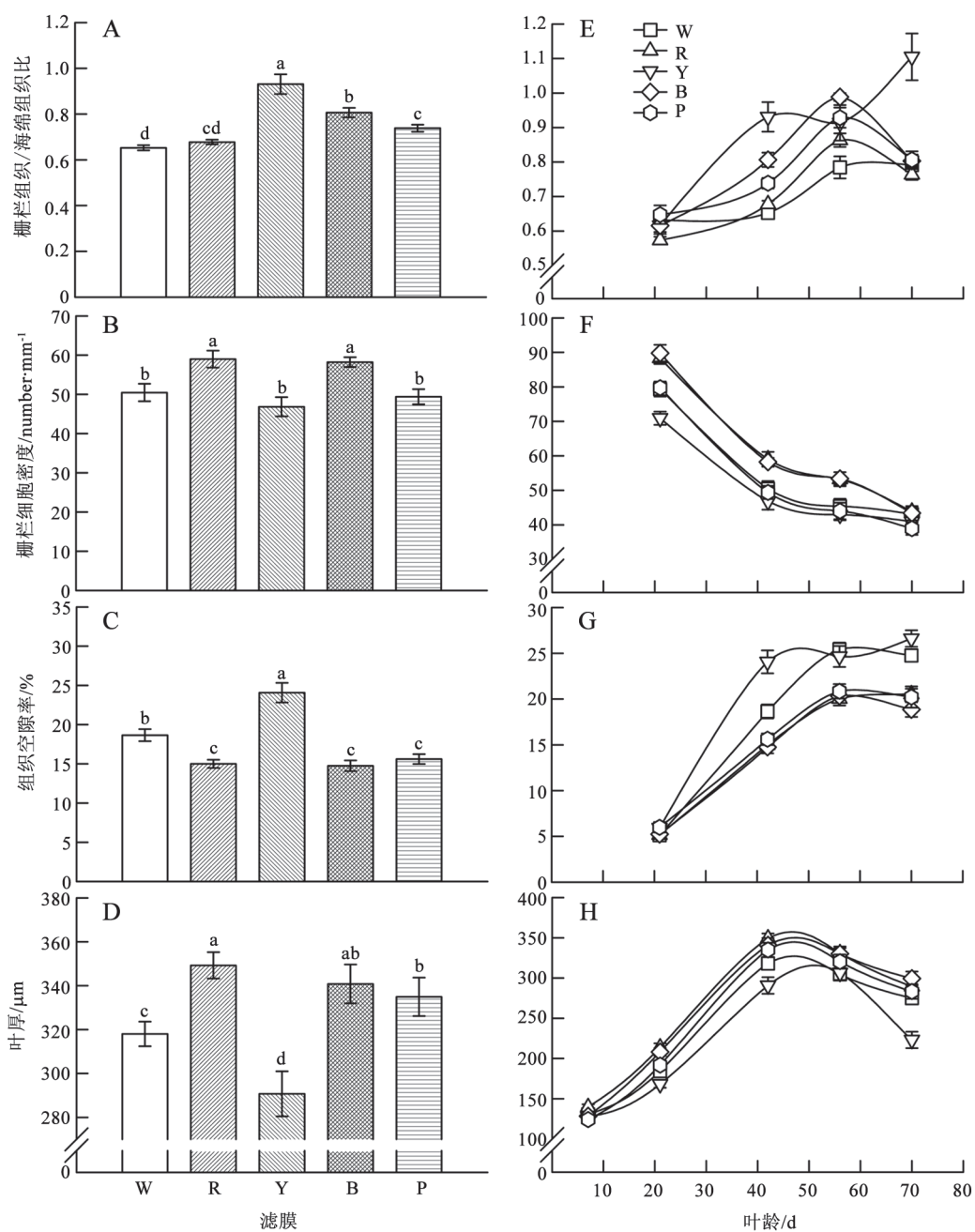


图2 不同光质处理对烟叶栅栏组织/海绵组织比、栅栏细胞密度、组织空隙率和叶厚的影响
Fig.2 Effects of different light quality on the ratio of palisade parenchyma to spongy parenchyma, palisade cell density, tissue interspace and leaf thickness in tobacco leaves

A~D: 42 d叶龄时的栅栏组织/海绵组织比、栅栏细胞密度、组织空隙率和叶厚; E~H: 烟叶生长过程中栅栏组织/海绵组织比、栅栏细胞密度、组织空隙率和叶厚的变化。A和E: 栅栏组织/海绵组织比; B和F: 栅栏细胞密度; C和G: 组织空隙率; D和H: 叶厚。

图3中Y-56 d和Y-70 d)。42 d时, 白膜和黄膜处理的组织空隙率显著高于其他处理, 同时黄膜的也显著高于白膜处理; 红、蓝、紫膜处理下的无差异(图2-C)。

不同光质处理下烟叶在生长过程中, 叶厚均呈先增加后减小的趋势(图2-H和图3)。7~21 d之间叶厚增加缓慢, 21~42 d急剧增加, 42 d之后开始有所减小。其中黄膜处理的从56 d开始大幅减小(图

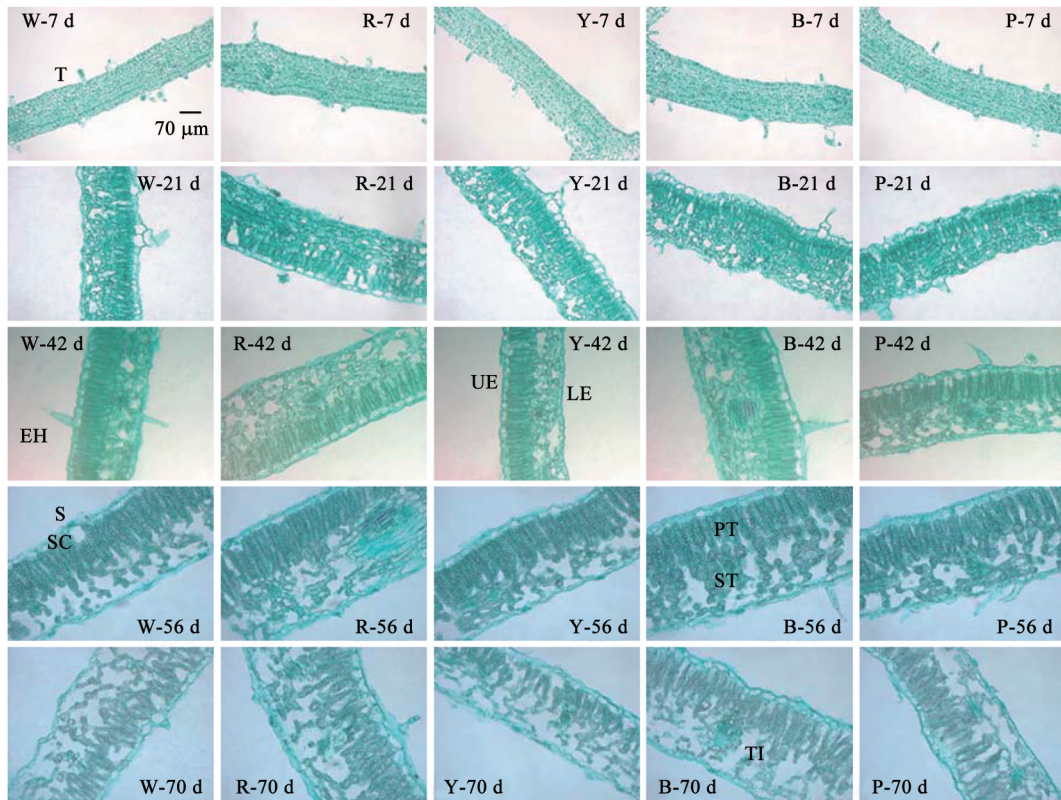


图3 不同光质处理下不同叶龄烟叶的切片图(400×)

Fig.3 Cross-sections of different ages of tobacco leaves under different light quality treatments (400×)

W-7 d: 表示白膜处理烟叶叶龄7 d时的切片, 其余依此类推。T: 腺毛(trichome); EH: 表皮毛(epidermic hair); UE: 上表皮(upper epidermis); LE: 下表皮(lower epidermis); S: 气孔(stoma); SC: 孔下室(stoma cavity); PT: 栅栏组织(palisade parenchyma); ST: 海绵组织(spongy parenchyma); TI: 组织空隙(tissue interspace)。

2-H, 图3中Y-56 d和Y-70 d)。42 d叶龄时, 红膜和蓝膜处理的显著高于白膜和黄膜的, 红膜的显著高于紫膜的; 黄膜处理的显著小于其他处理, 比白膜的减小15.8% (图2-D)。

2 不同光质处理对烟草叶片光合作用相关酶的影响

2.1 不同光质处理对烟草叶片Rubisco羧化酶活性的影响

烟叶在7~70 d的生长发育期内, Rubisco羧化酶活性先升高后降低, 在21和42 d时, 白膜处理下的酶活性与其余各处理相比差异显著($P < 0.05$), 而在7、56和70 d时各处理之间无差异($P > 0.05$) (图4-A)。21 d时, 红、蓝、紫膜处理的酶活性比白膜处理的分别高出23.0%、31.7%和17.5%, 而黄膜下的酶活性与白膜处理的相比降低了12.2%。42 d时, 红、蓝、紫膜处理的酶活性比白膜处理的分别高出20.0%、28.5%和19.4%, 而黄膜下的酶活性

相比降低了18.0%。在7~70 d的生长发育期内, 烟叶的净光合速率从叶龄7~21 d持续增大, 42 d略有下降, 之后迅速下降, 这与Rubisco羧化酶活性的变化情况基本相同(图4-B)。

2.2 不同光质处理对烟草叶片rbc和rca基因表达的影响

在烟叶生长发育过程中, *rbc*和*rca*基因的表达在42 d前均较强, 而42 d后2个基因的表达较弱。各种膜处理下的表达情况为: 红、蓝、紫膜处理下2个基因的表达均较强; 白膜和黄膜处理下, 虽然*rbc*基因的表达也较强(特别是白膜的), 但*rca*基因的表达较弱(特别是黄膜处理的) (图5)。

讨 论

1 光质对烟叶组织结构的影响

烟叶生长发育到一定程度后就开始从形态和

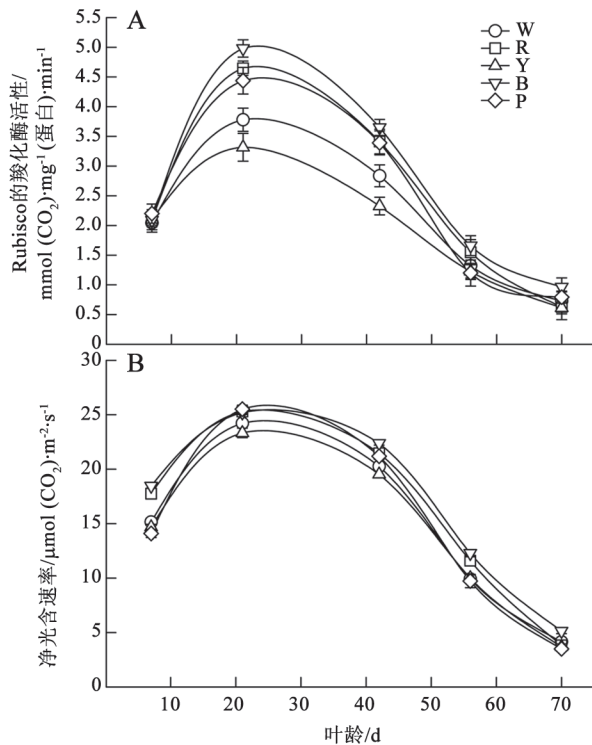


图4 不同光质处理下烟叶Rubisco羧化酶活性(A)及净光合速率(B)的变化

Fig.4 Changes of RuBPCase activity (A) and net photosynthetic rate (B) in tobacco leaves under different light quality

图中数据为Mean±SE, n=9。

生理两方面逐渐衰老, 烟叶成熟过程实质是衰老过程, 首先是碳水化合物的转化, 随后是蛋白质的降解, 最后是脂膜过氧化和细胞膜破裂。烟叶成熟过程中的形态和组织结构, 直接反映了其营养状况和成熟特征, 并最终影响烟叶的品质(张友玉和陈良碧2000; 王程栋等2007; 徐光辉等2008)。

本实验中, 在烟草叶龄7~70 d的生长发育过程中, 随着叶片的增厚, 上下表皮一直呈缓慢增加的趋势, 叶龄42 d后才趋于恒定(图1-E、F); 这与时向东等(2009)报道的结果不太一致, 可能是由于测量方式的差异所致。42 d前是栅栏组织和海绵组织的快速增长期, 叶龄42 d时叶片基本定长, 之后叶片的栅栏组织和海绵组织厚度随成熟度增加而减小; 这与吴国贺等(2007)报道的相似。蓝光处理下的烟草叶片栅栏组织厚度要大于红光处理的, 同时蓝光下的海绵组织也较厚; 这与Macedo等(2011)在蕹科莲子草属植物*Alternanthera brasiliana*上的结果相似。值得注意的是, 黄膜处理的烟草叶片

在其生长后期海绵组织厚度大幅变小, 这可能是由于叶片衰老期叶肉细胞缩水或降解程度较大, 海绵组织大幅萎缩所造成的(图3中Y-56 d和Y-70 d)。本实验中红膜和蓝膜处理下的叶片均较厚(图2-D和图3), 与Macedo等(2011)在*A. brasiliana*上及江明艳和潘远智(2006)在一品红上的结果类似。

栅栏组织的厚薄与烟叶的品质有一定关系, 一般认为品质较好的烟叶均有较厚的栅栏组织(张贵峰等2006)。而海绵组织可以影响叶片组织结构疏松度, 成熟度好的烟叶叶片结构疏松度较好(张友玉和陈良碧2000; 刘德育等2005)。此外, 叶厚是衡量烟叶生长发育状态的重要指标之一, 一般较厚的叶片发育充分, 单位叶面积重量也较重(时向东等2009)。红膜和蓝膜处理下生长的叶片, 不仅叶片较厚, 同时还有较厚的栅栏组织、较大的栅栏组织/海绵组织比和较密的栅栏细胞, 并保持一定的组织空隙率; 而黄膜处理叶片较薄, 海绵组织较小, 组织空隙率较大(图1和2)。因此, 红膜和蓝膜处理下的叶片可能具有良好的组织结构疏松度和烟叶品质, 而黄膜处理导致组织结构疏松度不佳(图3)。

2 光质对烟叶光合作用相关酶的影响

烟叶在7~70 d的生长发育期内, Rubisco羧化酶活性变化与净光合速率的变化是基本一致的(图4-A、B)。红、蓝、紫膜处理提高了Rubisco的活性, 而白膜和黄膜处理下的活性较低(图4-A), 其中白膜和红膜处理结果与Wang等(2009)的实验不一致。Wang等的实验结果是白光处理的Rubisco活性较高, 而红光处理较低。原因可能是光源和光强不一致造成的, 他们使用的光源为LED, 光强在 $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; 再者, 实验材料为黄瓜也可能有一定差异。Rubisco的酶活性是Rubisco和Rca相互作用的结果, 两个酶基因(*rbc*和*rca*)的表达结果显示, 不同光质对它们的表达强度有影响。黄光处理下的*rca*表达量特别低(图5), 这可能是其光合作用较低的重要原因。Cai等(2010)的实验也证明*rca*的表达水平能影响光合作用。因此, 要得到较高的光合效率, 保持Rubisco和Rca两个酶的高水平是非常重要的。

本实验结果表明, 不同光质处理对烟草叶片的组织结构有明显影响, 不同光质对*rca*基因表达的影响可能是导致烟草叶片Rubisco羧化酶的活性

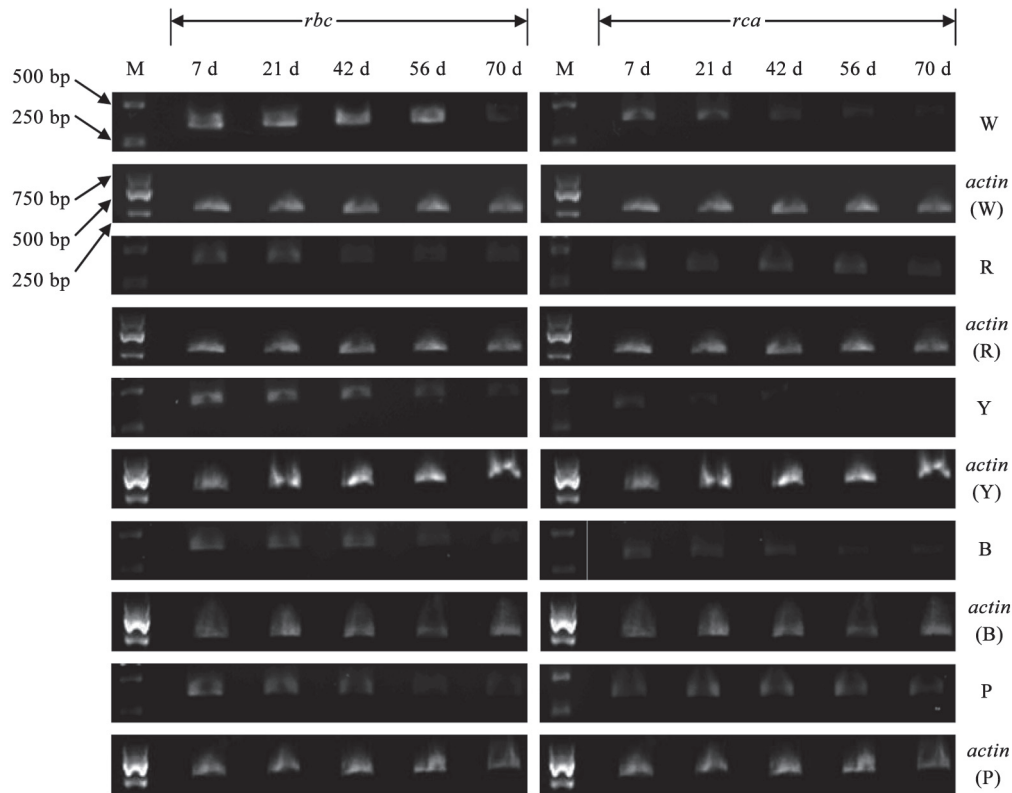


图5 不同光质处理对烟叶*rbc*和*rca*基因表达的影响

Fig.5 Effects of different light quality on the expression of *rbc* and *rca* genes in tobacco leaves

7~70 d表示叶龄; M: marker; 内参为*actin*。

及净光合速率变化的重要因素,并且这种由光质导致的叶片特征性组织结构可能和叶片光合效率有一定联系。我们先前的实验结果也表明,红光和蓝光提高了烟叶的光合作用,对烟叶的生长发育有积极的促进作用,黄光不利于烟叶的生长发育(柯学等2011;赵娟等2011)。这与在其他植物上的大多数研究所报道的结果相似(蒲高斌等2005; Muleo和Morini 2006; 崔瑾等2009; Li和Kubota 2009)。

今后的研究工件一方面要在叶片组织结构上进一步做到亚细胞水平,弄清光质对烟叶重要细胞器发育的影响,以确定光质影响烟叶生长发育的“靶位点”及关键时期;另一方面,光质影响*rca*基因表达的具体机制也值得进一步阐明。

参考文献

崔瑾,马志虎,徐志刚,张欢,常涛涛,刘海俊(2009). 不同光质补光对黄光、辣椒和番茄苗生长及生理特性的影响. 园艺学报, 36 (5): 663~670

- 江明艳,潘远智(2006). 同光质对盆栽一品红光合特性及生长的影响. 园艺学报, 33 (2): 338~343
- 柯学,李军营,李向阳,郭春芳,徐超华,晋艳,龚明(2011). 不同光质对烟草叶片生长及光合作用的影响. 植物生理学报, 47 (5): 512~520
- 李东霞,杨兴有,刘国顺,刘恩锋,李浩(2009). 遮阴对烤烟叶片结构和中性致香物质含量的影响. 安徽农业科学, 37 (18): 8449~8450, 8483
- 刘德育,孙广玉,蔡淑燕(2005). 移栽期对烤烟叶片组织结构的影响. 中国农学通报, 21 (12): 187~189
- 蒲高斌,刘世琦,刘磊,任丽华(2005). 不同光质对番茄幼苗生长和生理特性的影响. 园艺学报, 32 (3): 420~425
- 邱立友,李富欣,祖朝龙,马称心,杨超,冯云,刘国顺,赵会杰(2009). 皖南不同类型土壤植烟成熟期烟叶的基因表达和显微结构的比较. 作物学报, 35 (4): 749~754
- 时向东,方圆,杨双剑,程传策(2009). 烤烟叶片发育过程中的组织学和细胞学研究. 烟草科技, (7): 48~52, 60
- 王程栋,王树声,申国明,梁晓芳,陈爱国,刘光亮,高春亮,孙建宏,刘仕民(2007). 不同成熟度烟草叶片细胞超微结构变化规律研究. 中国烟草科学, 28 (3): 30~34
- 文锦芬,柯学,徐超华,李军营,龚明(2011). 光质对烟草叶片生长发育过程中抗氧化系统的影响. 西北植物学报, 31: 1799~1804
- 吴国贺,李虎林,孙立娟,金哲,陈晓红,鲁艺(2007). 烤烟不同成熟度叶片组织结构与色素含量的变化. 安徽农业科学, 35 (32):

10311~10312

- 徐光辉, 熊淑萍, 王璐, 李春明, 马新明(2008). 氮素形态对烤烟成熟期叶片组织结构及叶绿素含量的影响. 中国农学通报, 24 (9): 233~236
- 张贵峰, 李恒全, 赵光伟(2006). 烤烟叶片栅栏组织与叶片厚度比值的变化. 中国烟草科学, 27 (4): 31~34
- 张友玉, 陈良碧(2000). 烟草叶片组织结构的扫描电镜观察方法. 电子显微学报, 19 (2): 154~157
- 赵光伟, 孙广玉(2005). 揭膜和不揭膜对烤烟叶片结构的影响. 中国农学通报, 21 (11): 110~113
- 赵娟, 柯学, 徐超华, 李军营, 龚明(2011). 不同光质对烟草叶片生长发育过程中类半胱氨酸蛋白酶活性及其基因表达的调控. 安徽农业科学, 39 (23): 13965~13968
- Ayala-Ochoa A, Vargas-Suárez M, Loza-Tavera H, León P, Jiménez-García LF, Sánchez-de-Jiménez E (2004). In maize, two distinct ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase transcripts have different day/night patterns of expression. Biochimie, 86: 439~449
- Barta C, Dunkle AM, Wachter RM, Salvucci ME (2010). Structural changes associated with the acute thermal instability of Rubisco activase. Arch Biochem Biophys, 499: 17~25
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72: 248~254
- Cai B, Zhang A, Yang ZP, Lu QT, Wen XG, Lu CM (2010). Characterization of photosystem II photochemistry in transgenic tobacco plants with lowered Rubisco activase content. J Plant Physiol, 167: 1457~1465
- DeRidder BP, Salvucci ME (2007). Modulation of Rubisco activase gene expression during heat stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) involves post-transcriptional mechanisms. Plant Sci, 172: 246~254
- Goumenaki E, Taybi T, Borland A, Barnes J (2010). Mechanisms underlying the impacts of ozone on photosynthetic performance. Environ Exp Bot, 69: 259~266
- Li Q, Kubota C (2009). Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. Environ Exp Bot, 67: 59~64
- Macedo AF, Leal-Costa MV, Tavares ES, Lage CLS, Esquibel MA (2011). The effect of light quality on leaf production and development of *in vitro*-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. Environ Exp Bot, 70: 43~50
- Muleo R, Morini S (2006). Light quality regulates shoot cluster growth and development of MM106 apple genotype in *in vitro* culture. Sci Hortic, 108: 364~370
- Ristic Z, Momčilović I, Fu JM, Callegari E, DeRidder BP (2007). Chloroplast protein synthesis elongation factor, EF-Tu, reduces thermal aggregation of Rubisco activase. J Plant Physiol, 164: 1564~1571
- Roulin S, Feller U (1998). Dithiothreitol triggers photooxidative stress and fragmentation of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in intact pea chloroplasts. Plant Physiol Biochem, 36 (12): 849~856
- Wang H, Gu M, Cui JX, Shi K, Zhou YH, Yu JQ (2009). Effects of light quality on CO₂ assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. J Photochem Photobiol B: Biol, 96: 30~37
- Whitney SM, Andrews TJ (2001). Plastome-encoded bacterial ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) supports photosynthesis and growth in tobacco. Proc Natl Acad Sci USA, 98 (25): 14738~14743