

CO₂ 浓度对黄瓜叶片光合速率、RubisCO 活性及呼吸速率的影响

于国华 辉民 张国树 战淑敏 罗文熹
(莱阳农学院, 莱阳 265200)

摘 要 研究了在 200、350、500、700、1000mg/kgCO₂ 浓度处理下的黄瓜叶片的光合速率、呼吸速率及双磷酸核酮糖羧化加氧酶(RubisCO)活性。结果表明,增加 CO₂ 浓度,可显著提高黄瓜叶片的光合速率,在强光下,效果尤其明显。黄瓜叶片光合速率对不同 CO₂ 浓度的响应都有一个由低到高再低的趋势。黄瓜叶片暗呼吸在短时间内,随 CO₂ 浓度的增加而提高,随着时间的延长(6min 后),各种 CO₂ 浓度下的呼吸速率都降至相似的低水平。此时,CO₂ 浓度不影响暗呼吸速率。空气 CO₂ 浓度,细胞间隙 CO₂ 浓度与光合速率是一致的,在高 CO₂ 浓度下,气孔导度一般不是光合速率的限制因子。黄瓜叶片双磷酸核酮糖羧化酶活性,随 CO₂ 浓度的增加而提高,RuBP 加氧酶活性降低,RuBP 加氧酶与羧化酶之比亦下降。但在 CO₂ 浓度超过 500mg/kg 后,RuBP 羧化酶活性增长幅度变小。

关键词 黄瓜 二氧化碳浓度 光合速率 呼吸速率

CO₂ 是光合作用的原料。关于 CO₂ 浓度增加对提高蔬菜产量的生理原因已有报道^[5,6]。但是,植物对 CO₂ 浓度增加后的短期和长期响应上又有所不同^[6]。本试验以黄瓜为对象,研究不同 CO₂ 浓度下,光合速率,呼吸速率,气孔导度及 RuBP 羧化加氧酶活性,以期进一步探讨植物对 CO₂ 浓度升高作出的响应,为大棚蔬菜的 CO₂ 施肥提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

供试的黄瓜品种为长春密刺。采用盆栽试验,CO₂ 浓度共设 5 个处理,每个处理 9 盆,每盆 2 棵。黄瓜于春季播种后,放入日光温室生长,田间管理保持中等肥水条件。黄瓜长至结瓜始期,进行有关项目测定。

1.2 试验测定装置与方法

测定装置主要由同化箱、CO₂ 发生源、流量计、气泵、红外线 CO₂ 分析仪等组成。同化箱参

照王修兰等方法^[1]设计制作, 体积为 $2\text{m} \times 1.5\text{m} \times 1.5\text{m}$ 。光源为生物效应灯, 以高度调节光强, 用有机玻璃水槽降去灯光温度。 CO_2 的发生与浓度调节、控制参照许大全等方法^[2]进行, 同化箱内 CO_2 浓度变化用 GXH-305 光合仪检测。同化箱内光强、温度、湿度分别用量子传感器和热电偶和湿敏电阻测定。

试验设计 CO_2 浓度水平分别为 200、350、500、700、1000 mg/kg 等 5 种不同浓度。测定时, 同化箱内 CO_2 浓度变化幅度控制在小于 $\pm 10\text{mg/kg}$ 。

黄瓜叶片的光合速率、气孔导度、呼吸速率等用 LI-6200 光合作用分析系统测定。 CO_2 补偿点、光合速率等测定时, 同化箱内光强为 $1000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 温度控制在 28°C 。测定呼吸速率时, 用黑布遮住光源, 温度、湿度条件相同, 记录 10min 内呼吸速率的变化。

叶绿素含量用乙醇丙酮浸提法测定。

RuBPCase(双磷酸核酮糖羧化酶)活性测定采用同位素法^[6,7]。先将盆栽黄瓜放入同化箱内按处理要求的 CO_2 浓度预处理 2h, 然后准确处理 6h。处理时, 光强为 $1000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 温度为 28°C 。

粗酶液的制备 取处理后的同龄叶片, 剪碎混匀, 称取 1g 加 4ml 缓冲液(含 100mmol/L Hepes pH 7.7, 20mmol/L MgCl_2 , 10mmol/L DDT, 0.5mmol/L EDTA), 加少量石英砂, 在冰浴中研磨, 匀浆 15000 $\times g$ 离心 10min, 上清液即为酶的粗提液, 冰浴保存, 供酶活性测定用。

RuBPCase 活性测定 闪烁瓶中加入 500 μl 固定介质(含 100mmol/L Hepes pH 7.7, 20mmol/L KCl, 30mmol/L MgCl_2 , 1mmol/L DTT, 12mmol/L NaHCO_3), 再加入 10 μl 0.1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$ $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, 加 20 μl 酶粗提液, 在 28°C 水浴保温 4min, 加入 10 μl 12.5mmol/L RuBP, 在 28°C 水浴反应 1min, 加入 500 μl 4mol/L HCl 终止反应。80 $^\circ\text{C}$ 烘干, 冷却后, 加入 500 μl 蒸馏水溶解烘干物, 再加入 4.5ml 闪烁液, 用闪烁仪测定计数。

RuBPOase(双磷酸核酮糖加氧酶)活性测定采用氧电极法^[6,7]。先在反应杯中加入满蒸馏水(3ml), 然后放在磁力搅拌器上, 通过超级恒温水浴控制 28°C 的温度, 充分饱和后, 测定饱和水的含氧量。反应杯洗净后, 再加入 2.6ml 空气饱和的混合液(含 100mmol/L Hepes pH 8.7, 20mmol/L MgCl_2 , 1mmol/L EDTA, 1mmol/L DTT), 加入 350 μl 酶的粗提液, 28°C 平衡后, 用微量注射器自小塞孔加入 30 μl 12.5mmol/L RuBP。根据耗氧速率, 计算 RuBPOase 活性。

2 结果与分析

2.1 不同 CO_2 浓度与光合速率

CO_2 是植物光合作用的基本原料, CO_2 浓度直接影响其光合速率。经对盆栽黄瓜始瓜期功能叶片(叶绿素含量在鲜重条件下为 $1.6\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)测定结果, 黄瓜单叶的 CO_2 补偿点在 50 ~ 70 mg/kg , 随着 CO_2 浓度的增加, 光合速率亦明显提高。从图 1 可看出, CO_2 浓度不同, 影响程度亦不同, 不是成比例增高, 且峰值出现的时间也有差别, CO_2 浓度高, 峰值明显。从试验看出, 当 CO_2 浓度由 200 mg/kg 增长至 350 mg/kg 时, 光合速率增长幅度最大, 其 CO_2 浓度只增长 75%, 而平均光合速率增长近 2 倍。 CO_2 浓度超过 500 mg/kg 后, 光合速率增长幅度逐渐变小。国外有的研究报道也表明, 当 CO_2 浓度从 $270\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 提高到 $350\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ (提高 30%), 光饱和时, 光合速率提高 25%, 而 CO_2 浓度从 $350\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 提高到 $650\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$

(提高 86%) 时, 光合速率仅增加 27%。这说明 CO₂ 浓度在 270 至 350 μmol · mol⁻¹ 之间的少量增加, 对植物生长有较大的影响^[10]。图 1 还表明, 1 种 CO₂ 浓度的光合速率, 在 1d 的时间进程上的变化, 是由低到高再低的过程, CO₂ 浓度越高, 其峰值越明显。这可能是由于光合产物的积累引起的反馈抑制。加滕等研究认为, 1d 当中, 同化干物质量的 60% ~ 70% 是在上午产生的。

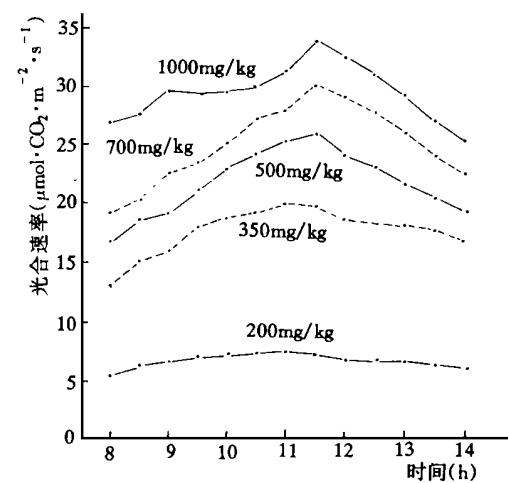


图 1 不同 CO₂ 浓度条件下黄瓜叶片光合速率的变化

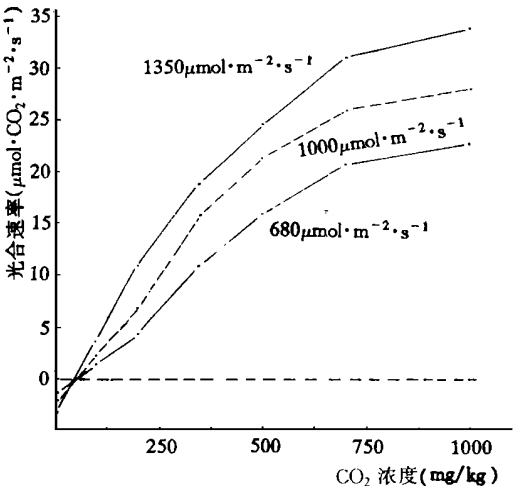


图 2 不同光强及 CO₂ 浓度条件下黄瓜叶片光合速率的变化

2.2 不同光强下 CO₂ 浓度与光合速率

从图 2 可看出, 不同光强下, CO₂ 浓度对黄瓜叶片光合速率的影响不同, 高光强下, 增加 CO₂ 浓度对提高光合速率更有利。

2.3 CO₂ 浓度与呼吸速率

在适宜的光、温、水条件下, CO₂ 浓度增加必然加速光合作用的进行, 加快碳水化合物的积累。故有研究报道, 高 CO₂ 会加强暗呼吸^[8]。也有报道, 暗呼吸受高 CO₂ 的抑制^[9]。经对盆栽黄瓜单叶遮光测定其暗呼吸, 在短时间内, 随着 CO₂ 浓度的增加, 呼吸速率亦相应提高。但是, CO₂ 浓度超过 500 μmol · mol⁻¹ 后, 呼吸速率上升减慢, 且随着时间延长, 呼吸速率下降, 至 6min 时, 即趋于稳定。这时, 各种 CO₂ 浓度下的呼吸速率都降至相近的低水平(表 1)。从试验

表 1 黄瓜叶片呼吸速率对 CO₂ 浓度的短期响应

空气 CO ₂ 浓度(mg/kg)	第 1min 呼吸速率 (CO ₂ μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	第 3min 呼吸速率 (CO ₂ μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	第 6min 呼吸速率 (CO ₂ μmol · m ⁻² · s ⁻¹)
200	5.0	1.8	1.4
350	9.9	3.6	1.8
500	17.5	4.3	2.1
700	20.7	5.1	2.1
1000	25.4	6.8	1.4

2.4 空气 CO₂ 浓度与细胞间隙 CO₂ 浓度、气孔导度和光合速率的关系

CO₂ 浓度增高, 会引起气孔的不均匀关闭或开度减小, 使气孔阻力加大, 气孔导度降低, 蒸

腾亦降低。故认为 CO₂ 进入叶肉细胞受阻,从而导致光合速率下降。经对盆栽黄瓜叶片的测定看出,随着 CO₂ 浓度的增加,确实存在气孔阻力加大,导度降低的现象。但是,光合速率仍随着 CO₂ 浓度增加而提高(表 2)。虽然已确定气孔是限制光合作用的一个重要因素,但只依靠气孔导度的大小来判断对光合速率的限制是不全面的。只有在细胞间隙 CO₂ 浓度降低和气孔限制值增大时,才可以认为

表 2 CO₂ 浓度对黄瓜叶片光合速率及气孔有关因子的影响

CO ₂ 浓度 (mg/kg)	光合速率 ($\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	气孔导度 ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$)	细胞间隙 CO ₂ 浓度(mg/kg)	蒸腾速率 ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
200	6.5	3.60	164	25.0
350	12.8	2.90	318	19.0
500	19.6	2.45	399	17.9
700	27.1	2.30	536	16.8
1000	29.0	2.12	876	14.4

为光合速率降低是由于气孔导度降低而引起的。如果在叶片光合速率降低时,却伴随着细胞间隙 CO₂ 浓度的提高,这时光合作用的主要限制因素一定是非气孔因素,主要是由叶肉细胞的光合活性所决定。

2.5 CO₂ 浓度对 RubisCO 活性的影响

提高 CO₂ 浓度,可以增加 RuBPCase 羧化的底物,促进其活性,提高 CO₂ 与 O₂ 的比值,减少了 O₂ 对 RuBP 的竞争,抑制了 RuBPOase 活性,故光呼吸降低,净光合速率提高。从测定不同 CO₂ 浓度下黄瓜叶片的 RuBPCase 和 RuBPOase 活性可以看出,随着 CO₂ 浓度的增加,RuBPCase 活性亦增加,当 CO₂ 浓度超过 500mg/kg 后,酶活性增加幅度变小。与此相反,RuBPOase 活性是随 CO₂ 浓度的增加而降低,RuBP 加氧酶与羧化酶的活性比亦随之降低(表 3)。因此,光呼吸必然降低,有利于光合产物的积累。

表 3 CO₂ 浓度对黄瓜叶片 RubisCO 活性的影响

CO ₂ 浓度 (mg/kg)	羧化活性 ($\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	加氧活性 ($\mu\text{molO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	加氧/羧化
200	3.10	3.03	0.98
350	6.15	3.05	0.50
500	10.70	3.10	0.29
700	11.90	2.27	0.19
1000	12.08	1.51	0.13

3 讨论

研究结果表明,CO₂ 浓度增加,光合速率明显提高,同时增加光照强度,效果更为明显。CO₂ 浓度升高后,能导致气孔开度减小,气孔阻力加大,气孔导度降低。但是,在高浓度 CO₂ 的空气中测定时没有观察到光合速率的降低,因为这时气孔导度不是光合速率的限制因子,而细胞间隙的 CO₂ 浓度是影响的主要因素。关于植物光合作用对 CO₂ 浓度的响应,有试验证实,蔬菜(如番茄、黄瓜、菜豆、白菜等)长期施用 CO₂ 后,净光合速率有降低的趋势。如,Combe 等(1985 年)指出,萝卜在 1000mg/kgCO₂ 下,6d 内净光合速率增加,第 6d 之后,光合速率减小^[1]。但也有研究报道,提高 CO₂ 浓度,光合速率也相应提高^[12]。对黄瓜叶片 CO₂ 饱和点的报道较少,在英国将 1000~1200mg/kg 作为黄瓜栽培的最适 CO₂ 浓度,在美国、日本等实际都用

1000mg/kg 为标准进行 CO₂ 施肥。

在一定范围内,随着 CO₂ 浓度的增加,RuBPCase 活性亦提高,RuBPOase 活性随着降低,加氧酶与羧化酶的活性比亦相对降低,继而提高黄瓜的光合速率。但是也有一些研究表明,高 CO₂ 条件下生长的叶片 RuBPCase 活性降低^[11]。而另一些研究发现,如玉米、大豆、马铃薯等植物在高 CO₂ 浓度下,其 RuBPCase 活性并不表现出适应性的下降,而且有的表现出升高。

由于光合速率与气孔导度等有关因子关系复杂,光合速率、酶活性受环境因子影响也较大,不同的植物材料,不同的研究方法,其研究结果并不一致,有待于进一步研究探讨。

参 考 文 献

- 1 王修兰,等. 植物群体光合速率测定装置与方法. 农业工程学报, 1993, 9(4): 62 ~ 65
- 2 许大全,等. 不同 CO₂ 含量空气的简易制备法. 植物生理学通讯, 1987(6): 55 ~ 57
- 3 张志良,等. 植物生物化学技术和方法. 北京: 农业出版社, 1986
- 4 张明贤,高志奎. 蔬菜 CO₂ 施肥效果及生理研究. 河北农业大学学报, 1993, 16(2): 87 ~ 91
- 5 张其德,等. 大气 CO₂ 浓度升高对光合作用的影响. 植物通报, 1992, 9(4): 18 ~ 23
- 6 施定基,等. 增施二氧化碳生理效应的初步研究. 植物生理学通讯, 1983(3): 30 ~ 33
- 7 魏锦成. 水稻叶片生育过程中 RubisCO 活性与光合、呼吸的关系. 植物生理学报, 1994, 20(3): 285 ~ 292
- 8 Hrabec TC, Robinson JM, Donaldson RP. Effects of CO₂ enrichment and carbohydrate content on the dark respiration of soybeans. Plant Physiol, 1985, 79(3): 684 ~ 689
- 9 Idso SB, Kimball BA. Effects of atmospheric CO₂ enrichment on photosynthesis, respiration and growth of sour orange trees. Plant Physiol, 1992, 99(1): 341 ~ 343
- 10 Overdiech D. The effects of preindustrial and predicted future atmospheric CO₂ concentration on *Lyonia mariana* L. D. Don. Functional Ecol, 1989, 3: 569
- 11 Peet MM, Huber SC, Patterson DT. Acclimation to high CO₂ in monoecious cucumbers. Carbon exchange rates, enzyme activities, and starch and nutrient concentrations. Plant Physiol, 1986, 80(1): 63 ~ 67
- 12 Wong SC. Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. Interactions of nitrogen nutrition and photosynthetic capacity in C₃ and C₄ plant. Oecologia, 1979, 44: 68

Effect of CO₂ Concentrations on Photosynthetic Rate, RubisCO Activity and Respiratory Rate of the Cucumber Leaves

Yu Guohua Man Huimin Zhang Guoshu Zhan Shumin Luo Wenxi

(Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200)

Abstract This experiment dealt with the influence of CO₂ at the concentrations of 200, 350, 500, 700 and 1000 mg/kg on photosynthetic and respiratory rates and RubisCO activity. The results showed that the CO₂ enrichment did increase the photosynthetic rate of upper leaves of cucumber, especially under intensive light conditions. The response of photosynthetic rate to the different CO₂ concentrations appeared low at the beginning, then higher and finally lower. The respiratory rates of these leaves increased rapidly with the enrichment of CO₂, until 6 min. Later all dropped to their lowest levels despite the CO₂ concentrations, from when there was no notable effect of CO₂ concentrations on the respiratory rates. The photosynthesis rate was positively correlated with the atmospheric and intercellular CO₂ concentrations. Generally the stomatal conductance was not a factor to inhibit photosynthetic at high CO₂ concentrations. The RuBP carboxylase activity was enhanced while RuBP oxygenase activity and also the ratio of the former to the latter decreased. Nevertheless, when the CO₂ concentrations were over 500mg/kg, the activity of RuBP carboxylase increased slightly.

Key words: Cucumber; CO₂ concentration; Photosynthetic rate; Respiratory rate