

HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗光合作用的影响

郝建军^{*,**}, 陈嫚^{*}, 于洋

沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳110161

摘要: 本试验以‘津春4号’黄瓜幼苗叶片为试材, 研究HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗光合作用的影响, 试图用KHCO₃水溶液中的HCO₃⁻作为碳源来补充CO₂的不足, 同时用NaHSO₃适当的抑制黄瓜的光呼吸, 进而提高光合速率。结果表明: HCO₃⁻可以作为碳源来补充大气中CO₂的不足, HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻可以提高光合速率、叶片可溶性糖含量, 可提高叶绿素a含量、叶绿素b含量及叶绿素总含量, 从而增强了光合作用的原初反应, 能显著提高PSI和PSII的光合电子传递速率, 提高ATP合酶的活性, 从而加快了光合磷酸化的进程。通过提高Rubisco羧化活性、PEPC酶的含量及活性, 降低Rubisco加氧活性, 加快了CO₂的固定与还原。

关键词: HCO₃⁻; K⁺; HSO₃⁻; 黄瓜幼苗叶片; 光合作用

Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on Photosynthesis of Cucumber Seedlings

HAO Jian-Jun^{*,**}, CHEN Man^{*}, YU Yang

College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

Abstract: Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on photosynthesis of cucumber seedlings was studied in this research. It is tried that HCO₃⁻ in KHCO₃ be used as a carbon source to supplement the shortage of CO₂. At the same time, NaHSO₃ was used to restrain photorespiration to increase photosynthetic rate of cucumber seedlings. The results showed that HCO₃⁻ can serve as a carbon source to supplement the lack of atmospheric CO₂. HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ can promote photosynthetic rate, raise content of soluble sugar, improve the contents of chlorophyll a, b and total chlorophyll content in the leaves, and thus enhance the initial response of photosynthesis. HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ can significantly improve the electron transport activity of PSI and PSII, enhance ATP enzyme activity and photosynthetic electron transfer rate. HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ enhance RuBPCase activity, and PEPCase activity and content, and debase RuBPOase activity and speed up the fixation and reduction of CO₂.

Key words: HCO₃⁻; K⁺; HSO₃⁻; cucumber seedlings; photosynthesis

近年来, 很多文献报道以大豆(王晗等2008)、茄子(李颖畅等2007)、水稻(张丽颖等2007)和黄瓜(邢亚南等2006)幼苗为试材, 在其叶面喷施KHCO₃来补充空气中CO₂的不足, 提高了Rubisco和PEPC酶活性, 加快了光合电子传递速率, 同时用NaHSO₃抑制光呼吸, 从而提高了光合速率。但这些研究未对Rubisco活性和含量作深入研究。本试验在王晗等(2008)工作基础上, 进一步探讨喷施KHCO₃和NaHSO₃对黄瓜幼苗光合速率、Rubisco活性、PEPC酶活性和电子传递的影响, 为KHCO₃和NaHSO₃在黄瓜生产上的应用提供一些理论依据。

材料与方法

1 试验材料

以‘津春4号’黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗

叶片为试材, 育苗过程如下: 先用55~60℃温水浸种消毒, 然后将种子倒入有温水的烧杯并不断搅拌至水温降到30℃以下, 浸泡6h后洗净捞出, 均匀平铺于大培养皿中, 于28℃恒温培养箱催芽, 待种子发芽后种于16孔苗盘中, 在人工培养箱中进行培养。试验于2007~2008年在沈阳农业大学生物技术学院植物生理培养室和辽宁省农业生物技术重点实验室进行。试验设定5个处理(重复3次): 1号, 1500 mg·L⁻¹ KHCO₃水溶液处理; 2号, 3.33 mmol·L⁻¹ NaHSO₃水溶液处理; 3号, 清水对照处理; 4号,

收稿 2010-05-06 修定 2010-07-17

资助 辽宁省教育厅科学技术研究项目(2004A011)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: haojianjun106@126.com; Tel: 024-88487764)。

1 500 mg·L⁻¹ NaHCO₃ 水溶液处理; 5 号, 3.33 mmol·L⁻¹ NaCl 水溶液处理(王晗等 2008)。分别在黄瓜幼苗第一、第二叶期用手压喷壶对其叶片进行喷施(使溶液在叶片表面形成均匀且细密的分布), 待第3片叶完全展开时取新鲜叶片测定各项指标。

用于喷施的 KHCO₃、NaHSO₃、NaCl 和 NaHCO₃ 产于沈阳市化学试剂厂。

2 试验方法

光合速率用 CIRAS-1 便携式光合系统 (PPSystems, 英国)测定。处理后第3天以黄瓜第3片叶测定。

叶片可溶性糖含量的测定参照张宪政(1992)的方法, 采用蒽酮法测定叶片中可溶性糖含量。叶片光合色素含量的测定参照李合生(2000)的方法。光合电子传递速率的测定参照陈启林等(2000)和王春梅等(2000)文中的方法, 测定 PSI、PSII 和 PSI+PSII 的电子传递速率。植物叶绿体中 ATP 合酶活性的测定采用李合生(2000)的方法。Rubisco 羧化活性及含量的测定采用李合生(2000)的方法。PEPC 酶活性及含量的测定参照冯福生和马力耕(1992)文中的方法。

3 数据统计分析

试验所得数据采用在 Excel 2003 与 SPSS 13.0 统计分析软件进行数据处理, 用 ANOVA 进行方差分析, 用 LSD 进行多重比较, 检验处理间的差异显著性。统计分析表中各数据为(均值 ± 标准差)。

实验结果

1 HCO₃⁻、K⁺ 和 HSO₃⁻ 对黄瓜幼苗光合速率的影响

由表 1 可知, 各处理相对于 CK 处理都提高了黄瓜幼苗的光合速率。KHCO₃ 处理的黄瓜幼苗叶片光合速率最高, 为 6.4750 μmol·m⁻²·s⁻¹, 比 CK 高 18.70%, 差异显著; 比 NaHCO₃ 处理高 9.28%, 差异不显著, 说明 K⁺ 对光合作用的促进作用优于 Na⁺, 而 HCO₃⁻ 是起主要作用。相比 NaCl 处理, NaHSO₃ 处理对黄瓜幼苗的光合速率促进作用较大, 说明 HSO₃⁻ 对光合作用的促进作用优于 Cl⁻, 而起主要作用的是 HSO₃⁻。

表 1 HCO₃⁻、K⁺ 和 HSO₃⁻ 对黄瓜幼苗第 3 片叶光合速率的影响

Table 1 Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on the third leaf photosynthetic rate of cucumber seedlings

处理	光合速率 / μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	增加的百分数 / %
KHCO ₃	6.4750±0.5550*	18.70
NaHSO ₃	6.1417±0.3957	12.59
CK	5.4550±0.3050	—
NaHCO ₃	5.9250±0.2350	8.62
NaCl	5.7950±0.4850	6.23

* 表示与 CK 相比差异显著(P<0.05)。下同。

2 HCO₃⁻、K⁺ 和 HSO₃⁻ 对黄瓜幼苗叶片可溶性糖含量的影响

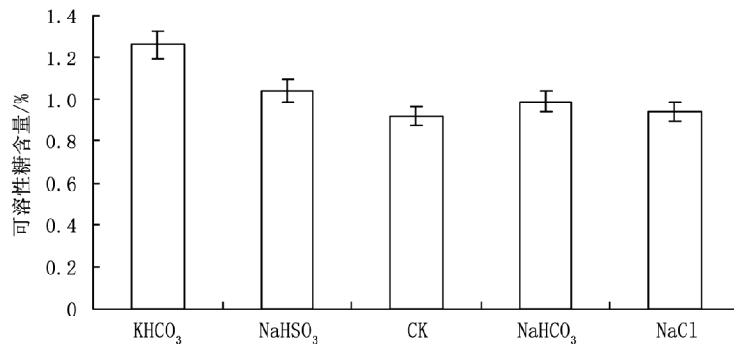
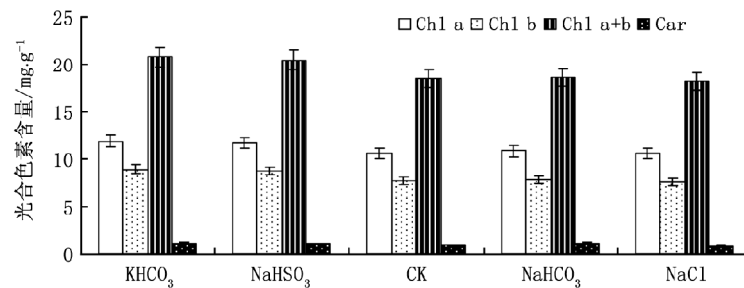
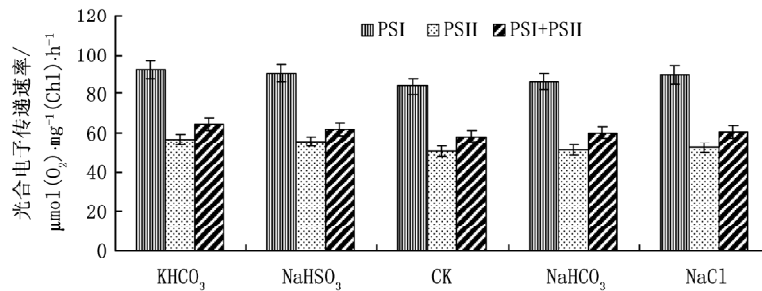
如图 1 所示, 各处理相对于 CK 处理都提高了黄瓜叶片的可溶性糖含量。KHCO₃ 处理和 NaHCO₃ 处理黄瓜叶片的可溶性糖含量分别比 CK 处理提高了 36.62% 和 6.69%, 说明其共有的 HCO₃⁻ 对叶片可溶性糖含量有促进作用, 并且 KHCO₃ 的促进作用明显优于 NaHCO₃, 说明 K⁺ 的促进作用明显优于 Na⁺; NaHSO₃ 和 NaCl 处理均提高了叶片可溶性糖含量, 说明其共有的 Na⁺ 有促进作用, 并且 NaHSO₃ 处理高于 NaCl 处理, 说明 HSO₃⁻ 促进作用优于 Cl⁻。

3 HCO₃⁻、K⁺ 和 HSO₃⁻ 对黄瓜幼苗叶片光合色素含量的影响

由图 2 可知, KHCO₃、NaHSO₃ 和 NaHCO₃ 处理均可以提高叶片叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素的含量, 说明其共有的 HCO₃⁻ 对叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素的含量有促进作用, 并且 KHCO₃ 处理高于 NaHCO₃ 处理, 说明 K⁺ 的促进作用优于 Na⁺; NaHSO₃ 处理高于 NaCl 处理, HSO₃⁻ 促进作用优于 Cl⁻。

4 HCO₃⁻、K⁺ 和 HSO₃⁻ 对黄瓜幼苗叶片光合电子传递速率的影响

由图 3 可知, 各处理都不同程度的促进了叶片的光合电子传递速率, 其中 KHCO₃ 处理明显促进光合电子传递速率。KHCO₃ 处理和 NaHCO₃ 处理都提高了 PSI 的光合电子传递速率, 说明其共有的 HCO₃⁻ 对 PSI 的光合电子传递有促进作用, 并且 KHCO₃ 处理明显高于 NaHCO₃ 处理, 说明 K⁺ 的促进作用明显优于 Na⁺。各处理对 PSII 和总的光合电

图1 HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗叶片中可溶性糖含量影响Fig.1 Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on the soluble sugar content of the leaf of cucumber seedlings图2 HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗叶片中光合色素含量的影响Fig.2 Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on chloroplast pigments content of cucumber seedlings图3 HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗叶片光合电子传递速率的影响Fig.3 Effects of HCO₃⁻, K⁺ and HSO₃⁻ on electron transport of cucumber seedlings

子传递的影响趋势和PSI相似。从CK处理的光合电子传递速率来看, PSI>总的电子传递>PSII。

5 HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗叶片中ATP合酶活性的影响

由图4可知,各处理都不同程度的促进了叶片的ATP合酶活性,总的来说KHCO₃处理的促进效果比较明显。KHCO₃的促进效果高于NaHCO₃,说明K⁺的促进效果优于Na⁺。KHCO₃对ATP合酶活

性的促进作用也可能是K⁺和HCO₃⁻相互作用的结果。NaHSO₃的促进效果高于NaCl,说明HSO₃⁻的促进效果优于Cl⁻。

6 HCO₃⁻、K⁺和HSO₃⁻对黄瓜幼苗叶片Rubisco羧化活性的影响

由图5可知, KHCO₃处理、NaHSO₃处理使叶片Rubisco羧化活性增加, KHCO₃处理相对于CK处理对Rubisco羧化活性增加幅度极大, NaHCO₃处理

相对于CK处理对Rubisco羧化活性提高率为46.68%, 说明其共有的 HCO_3^- 的促进作用最大, 并且 K^+ 比

Na^+ 对Rubisco羧化活性促进作用强。 NaHSO_3 处理和 NaCl 处理相对于CK处理对Rubisco羧化活性

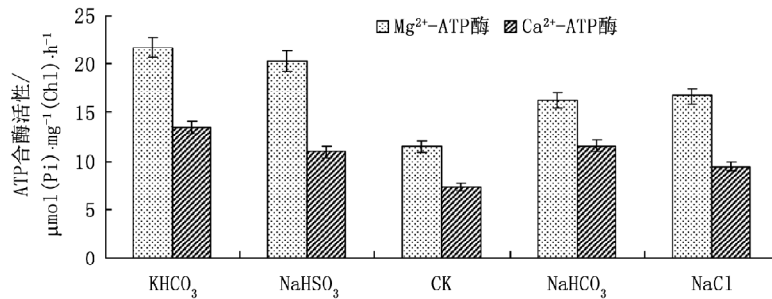


图4 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片中ATP合酶活性的影响

Fig.4 Effects of HCO_3^- , K^+ and HSO_3^- on ATP enzyme activity of cucumber seedlings

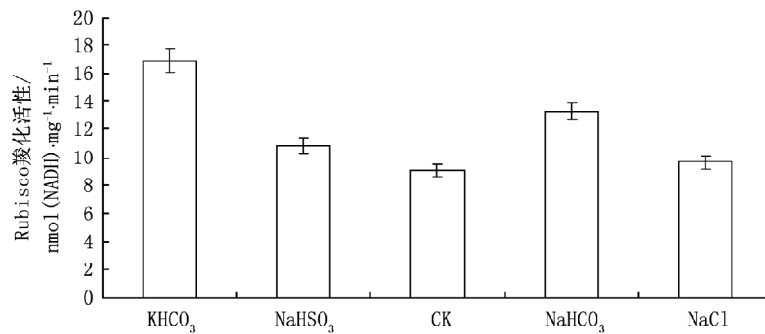


图5 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片中Rubisco羧化活性的影响

Fig.5 Effects of HCO_3^- , K^+ and HSO_3^- on Rubisco activity of the leaf of cucumber seedlings

增加幅度较小。

7 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片PEPC酶活性的影响

由图6可知, KHCO_3 和 NaHCO_3 处理使黄瓜幼苗叶片PEPC酶活性增加, NaHCO_3 处理相对于CK

处理对PEPC酶活性增加幅度较大, KHCO_3 处理相对于CK处理对PEPC酶活性增加幅度极大, 表明其共有的 HCO_3^- 对PEPC酶活性增加有促进作用, 并且 K^+ 的促进作用高于 Na^+ 。 NaHSO_3 处理相对于CK处理对PEPC酶活性增加不多。

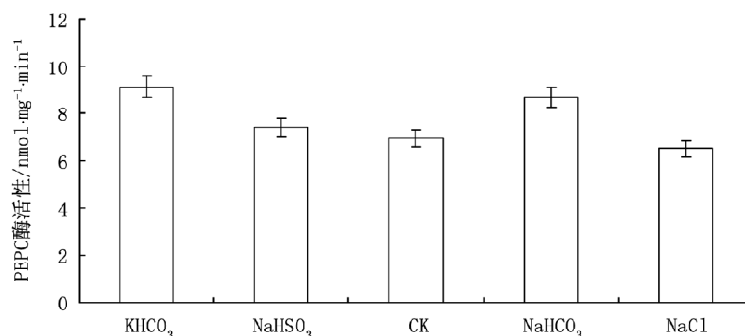


图6 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片中PEPC酶活性的影响

Fig.6 Effects of HCO_3^- , K^+ and HSO_3^- on PEPCase activity of the leaf of cucumber seedlings

8 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片 PEPC 酶含量的影响

由图7可知, KHCO_3 处理使黄瓜叶片 PEPC 酶含量增加。本试验证明了黄瓜幼苗叶片中含有

PEPC 酶, 并且外施 KHCO_3 可以提高 PEPC 酶含量及 PEPC 酶占可溶性蛋白的百分比, 这可能也是 HCO_3^- 和 K^+ 提高叶片 PEPC 酶活性的原因之一。而 NaHCO_3 降低 PEPC 酶的含量, 说明 K^+ 是提高 PEPC

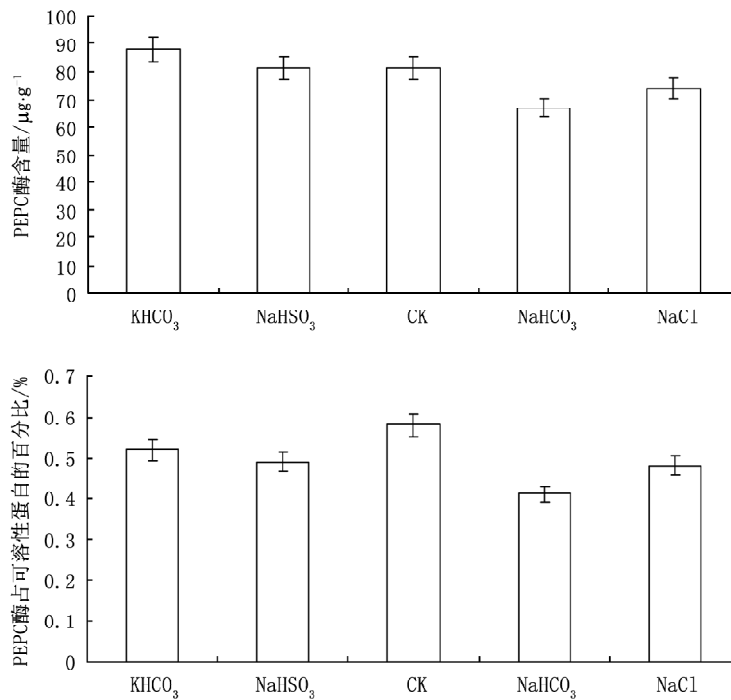


图7 HCO_3^- 、 K^+ 和 HSO_3^- 对黄瓜幼苗叶片中 PEPC 酶含量的影响

Fig.7 Effects of HCO_3^- , K^+ and HSO_3^- on PEPCase content of the leaf of cucumber seedlings

活性的主要因子。

讨 论

大量研究表明, 在一些 C_3 植物中存在 C_4 途径, 那么外施 HCO_3^- 就可作为 C_3 植物中 PEPC 酶的底物, 使 C_4 途径运转, 达到提高光合速率的目的(李卫华等 2001)。王晗等(2008)以大豆幼苗为试材的研究证明, KHCO_3 中的 HCO_3^- 可以作为碳源补充空气中 CO_2 的不足, KHCO_3 对大豆幼苗的光合速率有显著的促进作用。本试验结果也证明, 以 HCO_3^- 作为碳源可以显著提高黄瓜幼苗叶片光合速率。其作用机理可能是 HCO_3^- 作为光合作用的底物参与碳同化循环。郝建军等(2008)的研究证明, 喷施 KHCO_3 的大豆幼苗 PSI、PSII 和光合电子传递速率均提高。本试验结果表明 HCO_3^- 能显著提高黄瓜幼苗叶片 PSI、PSII 的光合电子传递速率, 提高 ATP 合酶的

活性, 进而加快了光合磷酸化的进程。李立人和施教耐(1991)实验分析表明纯化最大 Rubisco 活性的最适 $\text{pH} \approx 8$, 而 KHCO_3 提供了活化所需的 HCO_3^- 以及偏碱性条件; 另外 HCO_3^- 可以作为 Rubisco 羧化反应的底物, 促进 Rubisco 羧化的活性。邢亚楠等(2006)的研究证明, 喷施 KHCO_3 的黄瓜幼 Rubisco 和 PEPC 酶羧化活性均显著提高, 本试验结果也表明 HCO_3^- 可以提高 Rubisco 羧化活性, 则黄瓜叶片固定 CO_2 的效率加快, 需要更多的能量(ATP)和还原力(NADPH), 进而促进了光合电子传递和光合磷酸化的反应进程。Camp 等(1982)研究认为, 在 C_3 植物中 PEPC 是补充 C_4 有机酸的生物合成反应的一个关键酶。黄瓜中 PEPC 酶是 C_4 微循环中的限速酶, 本试验结果表明, 黄瓜幼苗叶片中含有 PEPC 酶, 叶面喷施 KHCO_3 使黄瓜幼苗叶片 PEPC 酶的含量及活性和 PEPC 酶比活力增加, 原因主要有: HCO_3^- 可

作为 PEP 羧化底物促进其羧化反应。

郑炳松等(2001)报道, 低钾导致净光合速率下降, Rubisco 及 Rubisco 活化酶活性和含量均降低, 其中尤以 Rubisco 初始活性的降低为最大, 并促进叶片衰老。本试验研究结果也表明, K^+ 能够提高黄瓜幼苗叶片光合速率, 进而可以得出体外进行钾元素的喷施, 是提高作物光合速率的一种有效途径。郑炳松等(2002)发现体外喷施适当浓度的钾可增多叶绿体内基粒, 促进光合电子传递及光合磷酸化, 提高植物的光合速率, 激活 RCA (Rubisco 活化酶), 提高 Rubisco 活性。本试验结果表明, K^+ 能显著提高 PSI、PSII、全链光合电子传递速率及 ATP 合酶的活性。于振文(1996)试验研究表明: 供钾不足使小麦生育后期旗叶过氧化物酶活性和丙二醛含量增高, 可溶蛋白质, 叶绿素含量, 气孔导度, 根系活力降低, 旗叶光合速率下降, 加速衰老。 K^+ 可以提高 CO_2 固定速率, 从而影响了 Rubisco 活性; K^+ 还可以活化有关酶, 加强 CO_2 同化和同化产物运输, 提高光合磷酸化作用和光合效率, 从而影响了 Rubisco 活性。本试验结果表明, K^+ 通过提高 Rubisco 羧化活性、PEPC 酶的含量及活性, 加快了光合作用暗反应的进程。

王宏伟等(2000)报道, 低浓度 $NaHSO_3$ 促进水稻、小麦的光合速率, 认为的促进作用可能是通过促进围绕 PSI 的循环电子传递及其耦联的光合磷酸化而促进光合作用。本试验结果表明, 低浓度 $NaHSO_3$ 促进黄瓜幼苗光合速率, PSI 和 PSII 以及全链光合电子传递。认为 HSO_3^- 对光合作用的促进作用可能是围绕 PSI 和 PSII 的光合电子传递。高浓度的 HSO_3^- 对光合作用有抑制作用。王宏伟等(2000)以小麦, 水稻为材料研究认为, 低浓度亚硫酸氢钠可能是通过促进围绕 PSI 的循环电子传递及其耦联的光合磷酸化而促进光合作用。本试验结果表明, HSO_3^- 能显著提高 PSI、PSII 及全链光合电子传递速率。 HSO_3^- 能通过提高 ATP 合酶的活性, 从而加快了光合磷酸化的进程。张树芹等(1999)于小麦开花后(灌浆期)喷施 $NaHSO_3$ ($200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 能有效地提高净光合速率, 抑制光呼吸, 同时对小麦籽粒的氨基酸组成也有影响。本试验结果表明, HSO_3^- 通过提高 Rubisco 羧化活性、PEPC 酶的含量及活性, 进而加快了 CO_2 的固定与还

原。 HSO_3^- 增加了叶片可溶性蛋白的含量, 增加了其他蛋白的合成。张树芹等(1999)研究表明 $NaHSO_3$ 抑制光呼吸, 进而影响与呼吸有关的氨基酸的合成, 使可溶性蛋白质含量降低。本试验未发现这种现象, 相反 $NaHSO_3$ 使蛋白质含量增加。本试验结果表明, HSO_3^- 能够提高光合速率、叶片可溶性糖含量。 HSO_3^- 通过提高 ATP 合酶的活性, 从而加快了光合磷酸化的进程。

参考文献

- 陈启林, 山仑, 程智慧, 沈允钢(2000). 低温弱光对黄瓜类囊体膜偶联状态的影响. 西北农业大学学报, 28 (16): 6~11
- 冯福生, 马力耕(1992). 低温对玉米叶片 PEP 羧化酶及其调节特性的影响. 植物生理学报, 18 (1): 45~49
- 郝建军, 于长海, 王晗, 于洋, 高兴(2008). 碳酸氢钾对大豆幼苗光合作用的影响. 植物生理学通讯, 44 (4): 723~725
- 李合生(2000). 植物生理生化试验原理和技术(第一版). 北京: 高等教育出版社
- 李立人, 施教耐(1991). 光合碳代谢研究的展望. 植物生理学通讯, 30 (5): 371~376
- 李卫华, 卢庆陶, 郝乃斌, 戈巧英, 张其德, 杜维广, 匡延云(2001). 大豆叶片 C_4 循环途径酶. 植物学报, 43 (8): 805~808
- 李颖畅, 郝建军, 于洋, 康宗利, 付淑杰(2007). 碳酸氢钾和亚硫酸氢钠对茄子幼苗光合作用的影响. 沈阳农业大学学报, 38 (4): 508~511
- 王春梅, 施定基, 朱水芳, 田波, 魏宁生(2000). 黄瓜花叶病毒对烟草叶片和叶绿体光合活性的影响. 植物学报, 42 (4): 388~392
- 王晗, 于洋, 郝建军(2008). $KHCO_3$ 和 $NaHSO_3$ 对大豆幼苗光合速率的影响. 大豆科学, 27 (3): 546~550
- 王宏伟, 魏家绵, 沈允钢(2000). 喷洒低浓度亚硫酸氢钠可促进小麦叶片光合磷酸化和光合作用. 科学通报, 45 (4): 394~398
- 邢亚南, 郑阳, 郝建军, 于洋, 付淑杰, 李峰, 闵国春(2006). 不同浓度碳酸氢钾对黄瓜幼苗光合作用的影响. 安徽农业科学, 34 (3): 421~423
- 于振文(1996). 钾营养对冬小麦光合作用和衰老的影响. 作物学报, 22 (3): 305~312
- 张丽颖, 于洋, 郝建军(2007). $KHCO_3$ 对水稻幼苗光合速率的影响. 安徽农业科学, 35 (4): 1009~1010
- 张树芹, 王宪泽, 赵士杰, 张万泉(1999). $NaHSO_3$ 对小麦光合速率、光呼吸及籽粒氨基酸组成的影响. 麦类作物, 19 (1): 44~46
- 张宪政(1992). 作物生理研究法(第一版). 北京: 农业出版社
- 郑炳松, 程晓建, 蒋德安, 翁晓燕(2002). 钾元素对植物光合速率、Rubisco 和 RCA 的影响. 浙江林学院学报, 19 (1): 104~108
- 郑炳松, 蒋德安, 翁晓燕, 陆庆, 奚海福(2001). 钾营养对水稻剑叶光合作用关键酶活性的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 27 (5): 489~494
- Camp PJ, Huber SC, Burke JJ, Moreland DE (1982). Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves. Plant Physiol, 70: 1641~1646