

## 技术与方法 Techniques and Methods

## 根据光合作用能量代谢测定光呼吸的方法研究

汪义龙, 夏莹萍, 张洁, 吴倩, 梁建生\*

扬州大学生物科学与技术学院, 江苏扬州225009

**摘要:** 本文根据光合作用和光呼吸途径能量代谢, 通过改变外界CO<sub>2</sub>和O<sub>2</sub>浓度, 计算卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub>和光呼吸消耗的O<sub>2</sub>。结果表明, 可以通过3种方法计算。方法1, 测定在CO<sub>2</sub>饱和点(A)和正常CO<sub>2</sub> (A')浓度下吸收的CO<sub>2</sub>, 得出光呼吸消耗的O<sub>2</sub>为:  $18/19(A-A')$ , 卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub>为:  $1/19(6A+13A'+19R_d)$ 。方法2, 测定在不含O<sub>2</sub>的空气中(O)和正常O<sub>2</sub> (O')浓度下释放的O<sub>2</sub>, 得出光呼吸消耗的O<sub>2</sub>为:  $-13/5O-O'-18/5R_d$ , 卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub>为:  $13/18(O'-O)$ 。方法3, 测定在正常情况下吸收的CO<sub>2</sub> (A')和释放的O<sub>2</sub> (O'), 得出光呼吸消耗的O<sub>2</sub>为:  $18(O'-A')$ , 卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub>为:  $6O'-5A'+R_d$ 。测定在CO<sub>2</sub>饱和点和正常CO<sub>2</sub>浓度下吸收的CO<sub>2</sub>计算出水稻光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占光合作用固定的24%~40%。

**关键词:** 光呼吸; 光合作用; 能量代谢; 水稻

## A Method to Calculate the Photorespiration Based on Photosynthesis Energy Metabolism

WANG Yi-Yong, XIA Ying-Ping, ZHANG Jie, WU Qian, LIANG Jian-Sheng\*

College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

**Abstract:** According to energy metabolism of Calvin cycle and photorespiration, the rate of CO<sub>2</sub> fixed in Calvin cycle and O<sub>2</sub> consumed in photorespiration were calculated by changing the external CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> concentrations. The results showed there were three ways for calculation. Method 1, based on the measurement of CO<sub>2</sub> absorption at CO<sub>2</sub> saturation point (A) and normal air (A'), consumption of O<sub>2</sub> in photorespiration could be calculated by  $18/19(A-A')$ , and the CO<sub>2</sub> fixed in Calvin cycle would be considered as  $1/19(6A+13A'+19R_d)$ . Method 2, on the grounds of O<sub>2</sub> released at CO<sub>2</sub>-free air (O) and normal air (O') conditions, consumption of O<sub>2</sub> in photorespiration and fixation of CO<sub>2</sub> in Calvin cycle can be deduced by formula  $-13/5O-O'-18/5R_d$  and  $13/18(O'-O)$ , respectively. Method 3, basing on the CO<sub>2</sub> fixation (A') and O<sub>2</sub> consumption (O') under the normal conditions, consumption of O<sub>2</sub> in photorespiration and fixation of CO<sub>2</sub> in dark reaction can be calculated as  $18(O'-A')$  and  $6O'-5A'+R_d$ , respectively. According to the methods mentioned above, it was found that the ratio of CO<sub>2</sub> released by photorespiration to photosynthesis is 24%~40% in *Oryza sativa*.

**Key words:** photorespiration; photosynthesis; energy metabolism; rice

光呼吸代谢是与光合碳代谢过程紧密偶联, 消耗光合作用产物, 同时消耗O<sub>2</sub>和释放CO<sub>2</sub>的代谢过程, 因此, 显著影响植物光合效率的进一步提高。长期以来, 许多实验室对光呼吸的功能进行了深入研究, 并尝试通过抑制光呼吸来提高植物的光合速率, 进而提高植物的产量。然而, 光呼吸作用对植物光合器官具有一定的保护作用, 尤其当植物处于不良环境下, 如干旱、强光等(Wingler等2000)。早在上世纪80年代, 许多研究表明, 光呼吸和光合作用关系密切, 并受光合速率影响(高煜珠等1980; 高煜珠和王忠1982; 王忠和高煜珠

1983, 1988)。因此, 无论是研究光呼吸的功能还是分析光呼吸与光合作用间的关系, 都有必要准确测定光呼吸速率。

目前, 测定光呼吸的主要方法有: (1)测定断光瞬间CO<sub>2</sub>的猝发量(Peterson 1983; Laisk和Oja 1998); (2)测定光下不含CO<sub>2</sub>的空气中CO<sub>2</sub>的释放量(王忠和高煜珠1986); (3)利用Rubisco酶促反应动力学的方法测定(Farquhar等1980); (4)测定<sup>14</sup>C<sub>2</sub>或

收稿 2014-03-24 修定 2014-06-24

\* 通讯作者(E-mail: jsliang@yzu.edu.cn; Tel: 0514-87979320)。

者 $^{13}\text{CO}_2$ 同位素的气体交换(Farquhar等1982, 1989; Lanigan等2008); (5)通过 $^{13}\text{CO}_2$ 同位素和近红外技术测定(Cegelski和Schaefer 2006); (6)利用 $^{13}\text{CO}_2$ 同位素和质谱技术测定(Haupt-Herting等2001); (7)利用 $\text{CO}_2$ 响应曲线分析(Tomaz等2010; Bermúdez等2012)和(8)以2%  $\text{O}_2$ 和21%  $\text{O}_2$ 浓度下光合速率的增值来表示(Lanigan等2008)。由于光呼吸产生的 $\text{CO}_2$ 既可以跨膜释放出细胞,也可以被卡尔文循环再固定(Gerbaud和Andre 1987),这部分被固定的 $\text{CO}_2$ 很难被检测到;同位素法一方面不能广泛用于测定光呼吸,另一方面Rubisco对 $^{14}\text{CO}_2$ 或者 $^{13}\text{CO}_2$ 同位素的亲和力与对 $\text{CO}_2$ 亲和力也不完全相同;而根据 $\text{CO}_2$ 响应曲线分析方法只能大概估计光呼吸的强弱(Azcon-Bieto和Osmond 1983; Sharkey 1985; Sharkey等1986; Gerbaud和Andre 1987),因此这些方法测定的光呼吸的值也不相同。

对光呼吸和光合作用的碳素代谢和能量代谢过程分析表明,光合作用和光呼吸过程在 $\text{CO}_2$ 固定和释放、 $\text{O}_2$ 的释放和消耗以及与能量产生和消耗之间存在一定的等量关系。光合作用光反应每产生3 mol ATP和2 mol NADPH,同时释放1 mol  $\text{O}_2$ 。卡尔文循环每固定1 mol  $\text{CO}_2$ 需要消耗3 mol ATP和2 mol NADPH,同时形成1/6 mol葡萄糖;光呼吸代谢每消耗3/2 mol  $\text{O}_2$ 、13/4 mol ATP、3/2 mol NADPH和1/4 mol RuBP,同时形成1/8 mol葡萄糖,释放1/2 mol  $\text{CO}_2$ (图1)(Douce和Heldt 2000; Bauwe 2011; Peterhansel和Maurino 2011)。

本研究利用光呼吸和光合作用 $\text{CO}_2$ 、 $\text{O}_2$ 和ATP

之间的数量关系,通过测定抑制光呼吸和正常情况下 $\text{CO}_2$ 的吸收,抑制卡尔文循环和正常情况下 $\text{O}_2$ 的释放,和正常情况下 $\text{CO}_2$ 的吸收和 $\text{O}_2$ 的释放三种方法来计算光呼吸消耗的 $\text{O}_2$ 和卡尔文循环固定的 $\text{CO}_2$ ;可以避免在光呼吸测定过程中由光呼吸释放的 $\text{CO}_2$ 被卡尔文循环重新固定产生的影响,为光呼吸和卡尔文循环的测定提供了准确简单的方法。

## 材料与方法

### 1 植物材料

供试水稻为‘日本晴’(*Oryza sativa* L. spp. *japonica* cv. Nipponbare),种植于扬州大学试验田中,正常条件下生长至抽穗期(8周后)用于进行光合作用参数测定。

### 2 光合作用参数测定

光合作用参数使用Li-6400XT光合仪测定,设置光照强度为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,温度为 $30^\circ\text{C}$ ,在不同 $\text{CO}_2$ 浓度(2 000、1 500和 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1} \text{CO}_2$ )下,测定光合作用参数,每10 s自动记录一次,共记录1 min。

### 3 方法的建立

#### 3.1 根据不同 $\text{CO}_2$ 浓度下吸收的 $\text{CO}_2$ 量来计算光呼吸和光合作用参数

该方法分2次测定。首先,测定 $\text{CO}_2$ 饱和点时吸收的 $\text{CO}_2$ ,此时光呼吸被抑制,光反应产生的ATP都用于卡尔文循环,因此可以计算出光反应产生的总ATP ( $\text{ATP}_{\text{total}}$ )以及释放的 $\text{O}_2$ 量。其次,测定正常情况下吸收的 $\text{CO}_2$ ,此时光呼吸消耗的ATP ( $\text{ATP}_o$ )和卡尔文循环消耗的ATP ( $\text{ATP}_c$ )之和等于

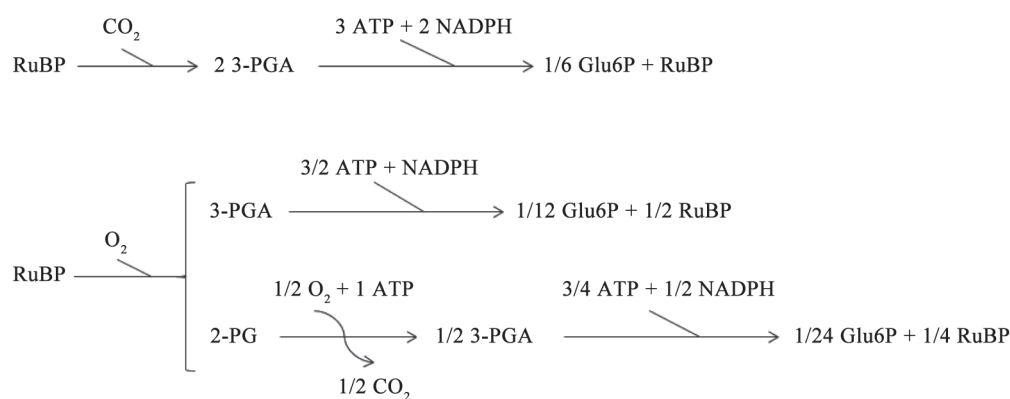


图1 卡尔文循环和光呼吸代谢中的能量消耗

Fig.1 Energy consumption of Calvin cycle and photorespiration

光反应产生的总ATP, 即:  $ATP_o + ATP_c = ATP_{total}$ 。

假定呼吸作用吸收的 $O_2$ 和释放的 $CO_2$ 为 $R_d$ , 正常情况下光呼吸消耗的 $O_2$ 为 $3x$ , 测定 $CO_2$ 饱和点时吸收的 $CO_2$ 为 $A$ ; 此时, 卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为:  $A+R_d$ ; 卡尔文循环消耗的ATP为:  $3(A+R_d)$ 。

光反应产生的ATP ( $ATP_{total}$ )= $3(A+R_d)$  (1)

测定正常情况下吸收的 $CO_2$ 为 $A'$ , 此时, 光呼吸途径释放的 $CO_2$ 为 $x$ ,

光呼吸消耗的ATP为:  $ATP_o = 6.5x$  (2)

卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为 $A'+x+R_d$ ,

卡尔文循环消耗的ATP ( $ATP_c$ )= $3(A'+x+R_d)$  (3)

根据能量守恒, 计算光呼吸消耗的 $O_2$  (公式2+公式3=公式1), 为

$6.5x + 3(A'+x+R_d) = 3(A+R_d)$

得:  $x = 6/19(A-A')$

即: 光呼吸消耗的 $O_2$ 为:  $18/19(A-A')$ ; 卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为:  $1/19(6A+13A'+19R_d)$ 。

### 3.2 根据不同 $O_2$ 浓度下释放的 $O_2$ 量来计算光呼吸和光合作用参数

该方法也分2次测定。首先, 测定没有 $CO_2$ 的空气中吸收的 $O_2$ , 此时卡尔文循环被抑制, 光反应产生的ATP都用于光呼吸, 计算出光反应产生的总ATP ( $ATP_{total}$ ), 以及释放的 $O_2$ 量。其次, 测定正常情况下释放的 $O_2$ , 此时光呼吸消耗的ATP ( $ATP_o$ )和卡尔文循环消耗的ATP ( $ATP_c$ )之和等于光反应产生的总ATP, 即:  $ATP_o + ATP_c = ATP_{total}$ 。

假定光反应释放的 $O_2$ 为 $O_t$ , 呼吸作用吸收的 $O_2$ 和释放的 $CO_2$ 为 $R_d$ , 正常情况下卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为 $y$ ; 在没有 $CO_2$ 的空气中, 测定释放的 $O_2$ 为 $O$  (由于此时光反应释放的氧气不足光呼吸的消耗, 因此, 该值应为负值)。

光反应产生的总ATP为:  $ATP_{total} = 3O_t$  (4)

光呼吸消耗的 $O_2$ 为:  $O_t - O - R_d$ ; 释放的 $CO_2$ 为:  $1/3(O_t - O - R_d)$ ,

消耗的ATP为:  $ATP_o = 6.5/3(O_t - O - R_d)$  (5)

根据能量守恒, 计算光反应释放的 $O_2$  (公式4=公式5), 为

$6.5/3(O_t - O - R_d) = 3O_t$

得:  $O_t = -13/5(O + R_d)$  (6)

正常情况下, 测定释放的 $O_2$ 为 $O'$ , 此时, 光呼吸消耗的 $O_2$ 为:  $O_t - O' - R_d$ ; 将公式6代入, 得:  $-13/5O - O' - 18/5R_d$ , 释放的 $CO_2$ 为:  $-1/3(13/5O + O' + 18/5R_d)$ 。

光呼吸消耗的ATP为:  $ATP_o = -6.5/3(13/5O + O' + 18/5R_d)$  (7)

卡尔文循环中固定的 $CO_2$ 为 $y$ ,

卡尔文循环消耗的ATP为:  $ATP_c = 3y$  (8)

根据能量守恒, 计算卡尔文循环固定的 $CO_2$  (公式7+公式8=公式4), 为

$-6.5/3(13/5O + O' + 18/5R_d) + 3y = -39/5(O + R_d)$

得:  $y = 13/18(O' - O)$

即: 光呼吸消耗的 $O_2$ 为:  $-13/5O - O' - 18/5R_d$ ,

卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为:  $13/18(O' - O)$ 。

### 3.3 根据正常空气下吸收的 $CO_2$ 和释放的 $O_2$ 量来计算光呼吸和光合作用参数

该方法同时测定吸收的 $CO_2$ 和释放的 $O_2$ , 光呼吸消耗的ATP ( $ATP_o$ )和卡尔文循环消耗的ATP ( $ATP_c$ )之和等于光反应产生的总ATP, 即:  $ATP_o + ATP_c = ATP_{total}$ 。

假定光反应释放的 $O_2$ 为 $O_t$ , 呼吸作用吸收的 $O_2$ 和释放的 $CO_2$ 为 $R_d$ ; 测定正常空气下固定的 $CO_2$ 为:  $A'$ , 释放的 $O_2$ 为:  $O'$ ,

光反应产生的总ATP为:  $ATP_{total} = 3O_t$  (9)

光呼吸途径消耗的 $O_2$ 为:  $O_t - O' - R_d$ , 释放的 $CO_2$ 为:  $1/3(O_t - O' - R_d)$ ,

光呼吸消耗的ATP为:  $ATP_o = 6.5/3(O_t - O' - R_d)$  (10)

卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为:  $A' + 1/3(O_t - O' - R_d) + R_d$ ,

卡尔文循环消耗的ATP为:  $ATP_c = 3[A' + 1/3(O_t - O' - R_d) + R_d]$  (11)

根据能量守恒, 计算光反应释放的 $O_2$  (公式10+公式11=公式9), 为

$6.5/3(O_t - O' - R_d) + 3[A' + 1/3(O_t - O' - R_d) + R_d] = 3O_t$

得:  $O_t = 19O' - 18A' + R_d$

公式19代入公式15, 得光呼吸消耗的 $O_2$ 为:  $18O' - 18A'$ , 卡尔文循环固定的 $CO_2$ 为:  $6O' - 5A' + R_d$ 。

表1列出了3种方法计算出的光反应释放的 $O_2$ 和产生的ATP, 以及在不同条件下卡尔文循环固定的 $CO_2$ 和消耗的ATP和光呼吸消耗的 $O_2$ 、ATP、RuBP和释放的 $CO_2$ 。

## 实验结果

### 1 方法的应用

表2是根据水稻‘日本晴’不同单株在不同 $CO_2$ 浓度下所测得的吸收的 $CO_2$ 的值后计算出的光呼

表1 根据能量代谢计算光呼吸和光合作用参数

Table 1 Calculation of photorespiration and photosynthesis based on energy metabolism

代谢途径	参数	方法1	方法2	方法3
光反应	吸收的CO <sub>2</sub>	A/A'	-	A'
	释放O <sub>2</sub>	-	O/O'	O'
	释放的O <sub>2</sub>	A+R <sub>d</sub>	-13/5(O+R <sub>d</sub> )	19O'-18A'+R <sub>d</sub>
	产生的ATP	3(A+R <sub>d</sub> )	-39/5(O+R <sub>d</sub> )	57O'-54A'+3R <sub>d</sub>
卡尔文循环 (CO <sub>2</sub> 饱和点条件下)	固定的CO <sub>2</sub>	A+R <sub>d</sub>	-	-
	消耗的ATP	3(A+R <sub>d</sub> )	-	-
光呼吸 (无CO <sub>2</sub> 空气情况下)	消耗的O <sub>2</sub>	-	-18/5(O+R <sub>d</sub> )	-
	消耗的ATP	-	-39/5(O+R <sub>d</sub> )	-
卡尔文循环 (正常情况下)	固定的CO <sub>2</sub>	1/19(6A+13A'+19R <sub>d</sub> )	13/18(O'-O)	6O'-5A'+R <sub>d</sub>
	产生的葡萄糖	1/114(6A+13A'+19R <sub>d</sub> )	13/108(O'-O)	1/6(6O'-6A'+R <sub>d</sub> )
	消耗的ATP	3/19(6A+13A'+19R <sub>d</sub> )	13/6(O'-O)	3(6O'-5A'+R <sub>d</sub> )
光呼吸 (正常情况下)	消耗的O <sub>2</sub>	18/19(A-A')	-13/5O-O'-18/5R <sub>d</sub>	18(O'-A')
	释放的CO <sub>2</sub>	6/19(A-A')	-13/15O-1/3O'-6/5R <sub>d</sub>	6(O'-A')
	产生的葡萄糖	3/38(A-A')	-13/60O-1/12O'-18/60R <sub>d</sub>	3/2(O'-A')
	消耗的ATP	39/19(A-A')	-169/30O-13/6O'-39/5R <sub>d</sub>	39(O'-A')
	消耗的RuBP	3/19(A-A')	-13/30O-1/6O'-3/5R <sub>d</sub>	3(O'-A')

表2 根据不同CO<sub>2</sub>浓度下CO<sub>2</sub>的吸收计算水稻光呼吸和光合作用参数Table 2 Calculation of photorespiration and photosynthesis based on the measurement of CO<sub>2</sub> absorption at different CO<sub>2</sub> concentrations in rice

编号	吸收的CO <sub>2</sub>		光呼吸					卡尔文循环			总ATP/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	总葡萄糖/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	PR/ %	TPS/ %
	A <sub>max</sub> / μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	A <sub>400</sub> / μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	O <sub>2</sub> / μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	CO <sub>2</sub> / μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	RuBP/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	葡萄糖/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	ATP/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	CO <sub>2</sub> / μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	葡萄糖/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	ATP/ μmol· m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>				
1	40.87	16.54	23.05	7.68	3.84	1.92	49.94	24.22	4.04	72.67	122.61	5.96	41	32
2	44.55	14.36	28.60	9.53	4.77	2.38	61.97	23.89	3.98	71.68	133.65	6.37	46	40
3	40.03	13.31	25.31	8.44	4.22	2.11	54.85	21.75	3.62	65.24	120.09	5.73	46	39
4	40.39	17.84	21.36	7.12	3.56	1.78	46.29	24.96	4.16	74.88	121.17	5.94	38	29
5	37.71	15.21	21.32	7.11	3.55	1.78	46.18	22.32	3.72	66.95	113.13	5.50	41	32
6	40.68	14.01	25.27	8.42	4.21	2.11	54.74	22.43	3.74	67.30	122.04	5.84	45	38
7	31.79	12.07	18.68	6.23	3.11	1.56	40.48	18.30	3.05	54.89	95.37	4.61	42	34
8	38.09	16.82	20.15	6.72	3.36	1.68	43.66	23.54	3.92	70.61	114.27	5.60	38	29
9	48.62	21.25	25.93	8.64	4.32	2.16	56.18	29.89	4.98	89.68	145.86	7.14	39	29
10	34.35	15.76	17.61	5.87	2.94	1.47	38.16	21.63	3.61	64.89	103.05	5.07	37	27
11	37.64	17.93	18.67	6.22	3.11	1.56	40.46	24.15	4.03	72.46	112.92	5.58	36	26
12	36.38	14.57	20.66	6.89	3.44	1.72	44.77	21.46	3.58	64.37	109.14	5.30	41	32
13	36.39	12.34	22.78	7.59	3.80	1.90	49.37	19.93	3.32	59.8	109.17	5.22	45	38
14	50.43	20.46	28.39	9.46	4.73	2.37	61.52	29.92	4.99	89.77	151.29	7.35	41	32
15	35.45	17.88	16.65	5.55	2.77	1.39	36.06	23.43	3.90	70.29	106.35	5.29	34	24

A<sub>max</sub>和A<sub>400</sub>分别为在200和400 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下测定; PR: 光呼吸消耗的ATP占光反应产生的总ATP的比值; TPS: 光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占卡尔文循环固定的总CO<sub>2</sub>的比值。

吸和卡尔文循环相关参数。结果表明, 不同单株中, 光呼吸消耗的ATP占光反应合成的总ATP的比值(PR)为34%~46%, 光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占卡尔文循环固定的总CO<sub>2</sub>的比值(TPS)为24%~40%。根据表2中的数据也可以得出, 光合作用固定的CO<sub>2</sub>和光

呼吸消耗的O<sub>2</sub>之间的比值为0.84~1.41; 由于光呼吸消耗的O<sub>2</sub>中只有2/3是用于Rubisco加氧反应, 故Rubisco羧化反应和加氧反应的比值为1.25~2.11, 除第15单株比值超过2以外, 其余单株的比值均在2以内。同时, 也可以算出在考虑到光呼吸发生的

情况下, 光合作用每固定1 mol CO<sub>2</sub>, 需要消耗5.95~9.31 mol光系统产生的ATP, 是没有光呼吸的情况消耗的ATP的2~3倍。

## 2 光呼吸代谢和光合作用参数相关分析

表3显示在400 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下光呼吸消耗的O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub>)、光反应释放的O<sub>2</sub> (RO<sub>2</sub>)、卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>)、光呼吸和卡尔文循环合成的葡萄糖和光呼吸消耗的ATP占光反应产生的ATP的比值(PR)等参数相关分析结果。表格左上三角形以1 500 μmol·mol<sup>-1</sup>的CO<sub>2</sub>浓度下测定的光合速率作为总光合, 右下三角形以2 000 μmol·mol<sup>-1</sup>的CO<sub>2</sub>浓

度下测定的光合速率作为总光合。结果表明, 光呼吸消耗的O<sub>2</sub>与总光合关系较大, 与在1 500和2 000 μmol·mol<sup>-1</sup> 2个CO<sub>2</sub>浓度下测定的总光合的相关系数均达到0.89; 400 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下的净光合速率与光反应释放的O<sub>2</sub>关系极显著, 在2个CO<sub>2</sub>浓度下的相关系数均达到0.99; 400 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下卡尔文循环固定的CO<sub>2</sub>不仅与总光合和净光合速率相关, 与光反应释放的O<sub>2</sub>之间的相关系数也达到了极显著差异; 光呼吸消耗的ATP占光反应合成的总ATP的比值与光呼吸消耗的O<sub>2</sub>之间关系极显著, 与光反应释放的O<sub>2</sub>之间的关系也达到了显著性水平。

表3 光呼吸和光合作用参数相关分析

Table 3 Correlation between photorespiration and photosynthesis parameters

	A <sub>2000</sub>	A <sub>400</sub>	O <sub>2</sub>	RO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	葡萄糖	PR
A <sub>1500</sub>		0.39	0.89**	0.28	0.87**	1.00**	0.59*
A <sub>400</sub>	0.62*		-0.06	0.99**	0.80**	0.44	-0.49
O <sub>2</sub>	0.89**	0.18		-0.18	0.56*	0.87**	0.88**
RO <sub>2</sub>	0.53*	0.99**	0.08		0.72**	0.33	-0.59*
CO <sub>2</sub>	0.91**	0.88**	0.62*	0.83**		0.89**	0.12
葡萄糖	1.00**	0.65**	0.86**	0.57*	0.93**		0.55*
PR	0.32	-0.54*	0.72**	-0.62*	-0.09	0.28	

\*和\*\*表示0.05和0.01水平显著性。

## 讨 论

### 1 不同方法测定光呼吸速率的差异

光呼吸是消耗O<sub>2</sub>释放CO<sub>2</sub>的过程, 光合作用是释放O<sub>2</sub>固定CO<sub>2</sub>的过程, 由于光呼吸和光合作用同时发生, 考虑到光呼吸释放的CO<sub>2</sub>既可以运输出细胞, 也可以被光合作用重新固定, 所以现有的方法无论是对光呼吸消耗的O<sub>2</sub>, 还是对光合作用固定的CO<sub>2</sub>的测定都存在理论上或技术上的缺陷。

Haupt-Herting等(2001)利用<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>和质谱技术在210 mL·L<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>、350 μL·L<sup>-1</sup> <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>或<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>和850 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>光照强度下测定马铃薯光呼吸的结果表明, 光呼吸释放的CO<sub>2</sub>大约占光合作用固定的30%。Cegelski和Schaefer (2006)利用<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>和近红外技术在400 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下测定大豆的光呼吸的结果表明, 光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占净光合作用固定的21%, 即占光合作用固定的17%, 当CO<sub>2</sub>浓度降低到200 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>时, 光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占净光合作用固定的比例增加明显, 达到了40%, 即

占光合作用固定的29%。Gerbaud和Andre (1987)考虑到光呼吸释放的CO<sub>2</sub>被光合作用重新固定的情况, 认为向日葵光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占净光合作用产物的30%~50%, 即占光合作用固定的23%~33%。本文通过测定在不同CO<sub>2</sub>浓度下水稻的光合速率, 计算出光呼吸释放的CO<sub>2</sub>占光合作用固定的24%~40%; 光呼吸消耗的ATP占光反应产生的总ATP的比值为34%~46%。

测定光呼吸的另一种比较常用的方法是以在2% O<sub>2</sub>和21% O<sub>2</sub>浓度下的光合速率之差作为光呼吸。表4中小麦和玉米的光呼吸代谢是以21% O<sub>2</sub>和1 500 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下的光合速率通过本方法计算出的, 水稻的光呼吸代谢是以2% O<sub>2</sub>和21% O<sub>2</sub>浓度下的光合速率通过本方法计算出的。de Veau和Burriss (1989)既测定了2% O<sub>2</sub>和21% O<sub>2</sub>浓度下的光合速率, 以两者差值作为光呼吸速率, 则光呼吸代谢占光合作用的比例为42%、3%和4%, 也测定了21% O<sub>2</sub>和1 500 μmol·mol<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>浓度下的光合速率, 通过本方法计算出的光呼吸代谢占光

表4 不同研究中光呼吸消耗的ATP占光反应产生的总的ATP的比值

Table 4 The ratio of ATP consumption in photorespiration to ATP production in photosynthesis in different studies

物种	PR/%	TPS/%	文献
小麦幼苗	31	20	de Veau和Burriss 1989
玉米幼苗	12	6	de Veau和Burriss 1989
玉米	13	7	de Veau和Burriss 1989
水稻	21	12	Yeo等1994
	19	11	Yeo等1994
	20	11	Kumagai等2011
	18	10	Kumagai等2011
水稻	34~46	24~40	本文方法

合作用的比例为20%、6%和7%,即C<sub>3</sub>植物光呼吸代谢被高估了,而C<sub>4</sub>植物光呼吸代谢被低估了。Yeo等(1994)在2% O<sub>2</sub>和21% O<sub>2</sub>浓度下测定水稻的光合速率,以两者差值作为光呼吸速率,则光呼吸代谢占光合作用的比例为31%和28%。Kumagai等(2011)在16 mmol·mol<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>和200 mmol·mol<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>浓度下测定水稻的光合速率,以两者差值作为光呼吸速率,则光呼吸代谢占光合作用的比例为28%和26%。与本研究结果相比,首先以2% O<sub>2</sub>条件下测定的光合速率作为没有光呼吸代谢时的总光合速率,与CO<sub>2</sub>饱和点时测定的值相比,总光合速率被低估了。其次,以两者之差作为光呼吸,该值表示Rubisco加氧反应消耗的O<sub>2</sub>量,还是光呼吸消耗总的O<sub>2</sub>量?第三,Rubisco羧化效率和加氧效率并不相同,以羧化反应表示加氧反应也存在问题。最后,与测定2% O<sub>2</sub>条件下的光合速率相比,测定CO<sub>2</sub>饱和点时光合速率更为简单。

本研究在光呼吸、卡尔文循环和光反应之间以ATP为切入点,充分考虑了光呼吸释放的CO<sub>2</sub>被光合作用固定的情况,在通过测定不同CO<sub>2</sub>浓度下的吸收的CO<sub>2</sub>和测定正常情况下的光合作用释放的O<sub>2</sub>和固定的CO<sub>2</sub>的量的两种方法,均可以避开呼吸作用在光呼吸测定过程中的干扰。在通过测定不同O<sub>2</sub>浓度下的释放的O<sub>2</sub>的量的方法,则可以避开呼吸作用在测定卡尔文循环过程中的干扰。

## 2 通过能量代谢测定光呼吸速率存在的问题

目前对光合作用和光呼吸代谢的研究尚存在较多未知因素,故本方法也存在一些问题,主要表现在光系统部分,首先光合磷酸化存在三种方式:

非环式光合磷酸化、环式光合磷酸化和假环式光合磷酸化,其中非环式光合磷酸化在产生ATP的同时释放O<sub>2</sub>,环式光合磷酸化和假环式光合磷酸化只有ATP的产生。王镜岩等(2002)认为,环式光合磷酸化的最大速率不到非环式光合磷酸化的5%,随着对光合磷酸化的进一步研究,得出不同磷酸化之间的相对比例,也可以对本方法进行修正。其次,由于存在不同的光合磷酸化方式,植物是否通过调节不同光合磷酸化的比例,以合成适量ATP和NADPH供卡尔文循环和光呼吸代谢消耗,也需要进一步的研究,目前对NADPH的跨膜转运虽然提出了磷酸丙糖转运(Foyer等2009)和苹果酸草酰乙酸转运(Douce等2000)两种方式,但是对机理尚不清楚,以本研究测定的水稻光呼吸代谢为例,光呼吸代谢释放的CO<sub>2</sub>占光合作用固定的1/4,即光合作用和光呼吸代谢消耗的总ATP:NADPH为37:22,通过调节非环式光合磷酸化和环式光合磷酸化的比例以产生适量的ATP和NADPH,而不发生NADPH的跨膜转运时,则环式光合磷酸化占非环式光合磷酸化的比例为10.8%。随着光合作用和光呼吸代谢机理的进一步研究,本方法也需要作出适当的调整。

## 参考文献

- 高煜珠,曹显祖,王忠,冯瑞云,章素英(1980). 关于光呼吸的化学控制的研究. 江苏农学院学报, 1 (4): 1~7
- 高煜珠,王忠(1982). 关于光呼吸与光合作用关系的研究——II环境因素对光合作用的影响及其与光呼吸的关系. 植物生理学报, 8 (4): 373~384
- 王镜岩,朱圣庚,徐长法(2002). 生物化学. 第3版. 北京: 高等教育出版社
- 王忠,高煜珠(1983). 关于光呼吸与光合作用关系的研究——III小麦叶片CO<sub>2</sub>猝发及其与光合作用的关系. 植物生理学报, 9 (4): 421~435
- 王忠,高煜珠(1986). 红外线CO<sub>2</sub>气体分析仪测定光呼吸的方法. 江苏农学院学报, 7 (3): 45~50
- 王忠,高煜珠(1988). 关于光呼吸与光合作用关系的研究——VII光呼吸是伴随光合作用发生的过程. 江苏农学院学报, 9 (2): 13~18
- Azcon-Bieto J, Osmond CB (1983). Relationship between photosynthesis and photorespiration, the effect of carbohydrate status on the rate of CO<sub>2</sub> production by respiration in darkened and illuminated wheat leaves. Plant Physiol, 71 (3): 574~581
- Bauwe H (2011). Photorespiration: The Bridge to C<sub>4</sub> Photosynthesis. In: Raghavendra AS, Sage RF (eds). C<sub>4</sub> Photosynthesis and Related CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms. Springer Science: Business Media BV, 81~108

- Bermúdez M<sup>Á</sup>, Galmés J, Moreno I, Mullineaux PM, Gotor C, Romero LC (2012). Photosynthetic adaptation to length of day is dependent on S-Sulfocysteine synthase activity in the thylakoid lumen. *Plant Physiol*, 160 (1): 274~288
- Cegelski L, Schaefer J (2006). NMR determination of photorespiration in intact leaves using in vivo <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> labeling. *J Magn Reson*, 178 (1): 1~10
- de Veau EJ, Burris JE (1989). Photorespiratory rates in wheat and maize as determined by <sup>18</sup>O-labeling. *Plant Physiol*, 90 (2): 500~511
- Douce R, Heldt HW (2000). Photorespiration. In: Leegood RC, Sharkey TD, von Caemmerer S (eds). *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Netherlands: Academic Publishers, 115~136
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA (1980). A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta*, 149 (1): 78~90
- Farquhar GD, Leary MH, Berry JA (1982). On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust J Plant Physiol*, 9: 121~137
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, 40: 503~537
- Foyer C H, Bloom A J, Queval G (2009). Photorespiratory metabolism: genes, mutants, energetics, and redox signaling. *Annu Rev Plant Physiol*, 60: 455~484
- Gerbaud A, Andre M (1987). An evaluation of the recycling in measurements of photorespiration. *Plant Physiol*, 83 (4): 933~937
- Haupt-Herting S, Klug K, Fock HP (2001). A new approach to measure gross CO<sub>2</sub> fluxes in leaves. Gross CO<sub>2</sub> assimilation, photorespiration, and mitochondrial respiration in the light in tomato under drought stress. *Plant Physiol*, 126 (1): 388~396
- Kumagai E, Araki T, Hamaoka N, Ueno O (2011). Ammonia emission from rice leaves in relation to photorespiration and genotypic differences in glutamine synthetase activity. *Ann Bot*, 108 (7): 1381~1386.
- Laisk A, Oja V (1998). Rapid-response Gas Exchange Measurement Systems for the Investigation of the Kinetics of Leaf Photosynthesis. In: Laisk A, Oja V (eds). *Dynamics of Leaf Photosynthesis. Rapid Response Measurements and Their Interpretation*. Australia: CSIRO Publishing, 13~38
- Lanigan GJ, Betson N, Griffiths H, Seibt U (2008). Carbon isotope fractionation during photorespiration and carboxylation insensio. *Plant Physiol*, 148 (4): 2013~2020
- Peterhansel C, Maurino VG (2011). Photorespiration redesigned. *Plant Physiol*, 155 (1): 49~55
- Peterson RB (1983). Estimation of photorespiration based on the initial rate of postillumination CO<sub>2</sub> release I. A nonsteady state model for measurement of CO<sub>2</sub> exchange transients. *Plant Physiol*, 73 (4): 983~988
- Sharkey TD (1985). O<sub>2</sub>-insensitive photosynthesis in C<sub>3</sub> plants. Its occurrence and a possible explanation. *Plant Physiol*, 78 (1): 71~75
- Sharkey TD, Seemann JR, Percy RW (1986). Contribution of metabolites of photosynthesis to post illumination CO<sub>2</sub> assimilation in response to lightfleets. *Plant Physiol*, 82 (4): 1063~1068
- Tomaz T, Bagard M, Pracharoenwattana I, Linden P, Lee CP, Carroll AJ, Stroher E, Smith SM, Gardstrom P, Millar AH (2010). Mitochondrial malate dehydrogenase lowers leaf respiration and alters photorespiration and plant growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 154 (3): 1143~1157
- Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC (2000). Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Phil Trans R Soc Lond B*, 355: 1517~1529
- Yeo ME, Yeo AR, Flowers TJ (1994). Photosynthesis and photorespiration in the genus *Oryza*. *J Exp Bot*, 45 (5): 553~560