

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

王宏伟 魏家绵 沈允钢

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032, Email: hwwang@iris.sipp.ac.cn)

摘要 用 1~2 mmol/L NaHSO_3 喷施于小麦叶面, 可以提高叶片的光合速率, 并能持续 3 d 左右. 在此条件下, 光下叶片中的 ATP 含量提高, 叶片的毫秒延迟发光加强, 反映与光合磷酸化活力有关的跨类囊体膜质子梯度增加. 将已知可促进循环光合磷酸化的辅助因子 PMS 和 NaHSO_3 分别和共同喷洒叶片, 次日所有叶片的光合速率均比对照(喷水)提高 20% 左右. 共同处理未出现叠加效应, 表明 NaHSO_3 的主要作用和 PMS 促进光合速率的原因类似, 都是增加了 ATP 的供应.

关键词 亚硫酸氢钠 光合磷酸化 ATP 毫秒延迟发光(ms-DLE) 光合作用

Zelitch^[1]在 1957 年用离体实验表明 α -羟基磺酸对乙醇酸氧化酶有抑制作用, 并观察到 NaHSO_3 对该酶的抑制作用几乎与 α -羟基磺酸一致, 因而认为 NaHSO_3 是与乙醇酸的氧化产物——乙醛酸生成磺基乙醇酸(α -羟基磺酸类)后再起作用的. 1966 年, Zelitch^[2]试用 α -羟基磺酸处理离体叶片, 抑制乙醇酸的氧化, 在短期内有降低光呼吸和增加光合作用的效应(在这文献中他未提到 1957 年有关 NaHSO_3 可抑制乙醇酸氧化酶的实验, 更未观察 NaHSO_3 是否也有短期促进光合作用的效应). 我们将这两篇报道联系起来, 并考虑到 NaHSO_3 很便宜, 易于购得, 且在低浓度时无害, 就在 1970 年初试用它处理水稻、棉花等作物的连体叶片, 发现它可较长期地提高光合速率, 有时也可使产量增加^[3]. 首先由张贤泽等人^[4], 接着全国各地都用 NaHSO_3 对多种作物进行了较大规模的试验, 得到类似结果. 这样可以说在我国首先开展了利用 NaHSO_3 处理作物进行提高光合作用和增产的研究, 国外尚未见这方面的报道. 由于张贤泽等人^[4]是引用 Zelitch 以 α -羟基磺酸处理离体叶片可降低光呼吸和促进光合作用的短期实验来解释他们用 NaHSO_3 处理连体叶片较长期地提高光合作用和有增产效果的^[4], 我们感到这样的推测是间接的. 因此, 就对此问题进行了较仔细的探讨, 结果表明, NaHSO_3 较长期地促进光合作用并不是通过抑制光呼吸的缘故^[5]. 那时进行的离体实验表明, 它可能与促进光合磷酸化有关, 但未知在体内是否有此效应^[5,6]. 我们深感有必要进一步对这问题加以研究, 为把 NaHSO_3 处理提高作物光合作用的技术变成真正可推广应用的增产措施打下理论基础. 本文的目的是研究 NaHSO_3 提高叶片光合速率的效应和在体内促进光合磷酸化的关系.

1 材料与方法

(i) 实验材料及 NaHSO_3 处理方法. 实验材料为小麦(*Triticum aestivum*, 品种 J411), 在上海植物生理研究所的温室中盆栽及试验田中种植. 在抽穗后至乳熟期间(已知这阶段的光合作用和作物产量的关系最密切), 对生长在植株上的旗叶喷洒 NaHSO_3 . 于晴天傍晚选择株型、长势、叶片均一的植株旗叶用超微喷雾器进行喷雾处理, 对照喷等量蒸馏水.

(ii) 光合速率测定. 用美国 CID 公司生产的 CI-301 型便携式光合气体分析系统在田间自然光照下或在室内人工光源(1 000 W 碘钨灯, 灯与叶片之间有隔热流动水层)下测定^[7]. 测

定时温度为 25℃, 光强约 $1\,000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (光强响应测定时除外)。

(iii) ATP 含量的测定. 参照文献[8]的方法, 选取两侧对称的小麦旗叶, 先将中脉去除, 以中脉两侧的半叶分别作对照(喷蒸馏水)与处理(喷 $1\ \text{mmol/L}\ \text{NaHSO}_3$), 于次日剪取两者相同部位、面积相等的叶片段, 沸水处理 (杀死并提取) $10\ \text{min}$, 冷却后, 取一定体积溶液用荧光素酶法测定其中的 ATP 含量。

(iv) 毫秒延迟发光的测定. 选取和处理同(iii), 按文献[9]方法采用磷光计测定其毫秒延迟发光。

2 结果

2.1 NaHSO_3 处理对叶片光合速率的影响

在傍晚用不同浓度 NaHSO_3 喷洒小麦植株后, 次日上午比较叶片的光合速率 (图 1)。所得结果与文献[5]的实验结果相似, 即用 $1\sim 2\ \text{mmol/L}\ \text{NaHSO}_3$ 处理叶片的光合速率 (P_n) 明显高于对照。 NaHSO_3 喷洒小麦植株后, 于不同时间测定其旗叶的光合速率 (图 2), 也观察到

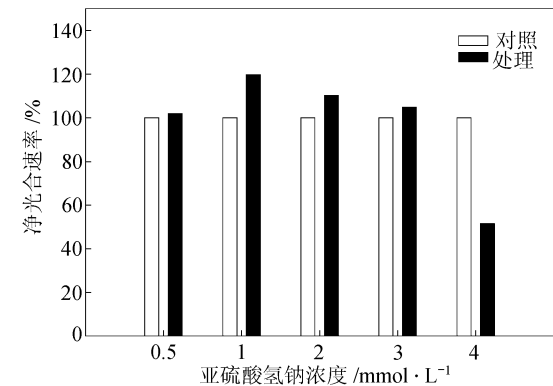


图 1 亚硫酸氢钠对 J411 小麦旗叶净光合速率的影响

前一日下午 4:30 喷洒, 次日上午 10:00 测定. 测定光强 $1\,100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

和过去相仿的效应^[5], 此促进作用可持续 3 d 左右. 比较 $1\ \text{mmol/L}\ \text{NaHSO}_3$ 处理和对照叶片的光合作用光响应曲线(图 3), 可见用 NaHSO_3 处理后, 其叶片在饱和光下和弱光下的光合速率都得到了促进. 在上述结果的基础上, 我们研究了亚硫酸氢钠促进光合速率的现象与光合磷酸化的关系。

2.2 NaHSO_3 和 PMS 处理叶片对光合速率的影响

我们近几年的工作表明, 叶片中光合磷酸化提供 ATP 数量常不足以满足碳同化需

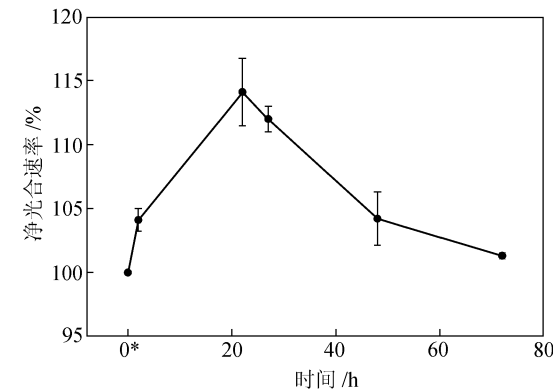


图 2 J411 小麦旗叶在 $1\ \text{mmol/L}$ 亚硫酸氢钠处理后光合速率变化的进程

测定光强 $1\,100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, *为处理前

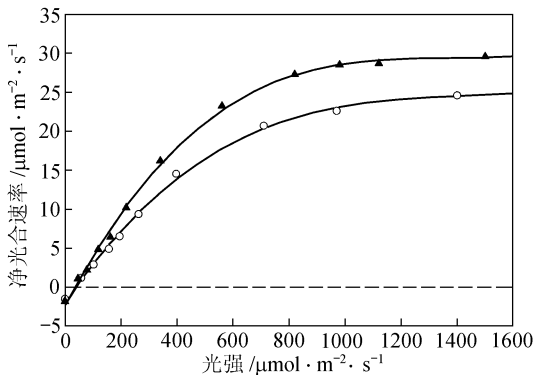


图 3 J411 小麦旗叶经亚硫酸氢钠处理的光合作用的光响应曲线

▲—— $1\ \text{mmol/L}\ \text{NaHSO}_3$ 处理, ○——对照

要, 因而是光合作用的限制因子. 将催化循环光合磷酸化的辅助因子硫酸甲酯吩嗪 (PMS) 引入叶片常可增加叶片中 ATP 含量和提高光合速率^[10, 11]. 如果 NaHSO_3 是通过增加光合磷酸化形成 ATP 来促进光合速率, 也可能看到叶片中在光下 ATP 含量的增加. 我们测定的结果表明的确如此, 前一天傍晚用 1 mmol/L NaHSO_3 处理的叶片在第 2 天上午 10 时的 ATP 含量为 $(4.60 \pm 0.27) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$, 而对照中只有 $(2.77 \pm 0.6) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$ ($P = 0.027$, 差异显著). 我们还比较了 1 mmol/L NaHSO_3 和 $0.2 \mu\text{mol/L}$ PMS 分别和共同处理叶片对第 2 天光合速率的影响 (图 4). 从图 4 可以看到, 它们分别处理和共同处理都可以促进光合速率 20% 左右. 分别处理和共同处理所提高光合速率的程度相仿, 表明它们的促进作用很可能都是增加了 ATP 的形成,

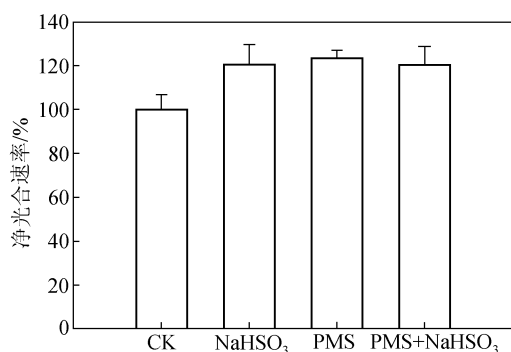


图 4 NaHSO_3 和 PMS 对 J411 小麦旗叶光合速率的影响

NaHSO_3 浓度为 1 mmol/L , PMS 浓度为 $0.2 \mu\text{mol/L}$, 测定光强为 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

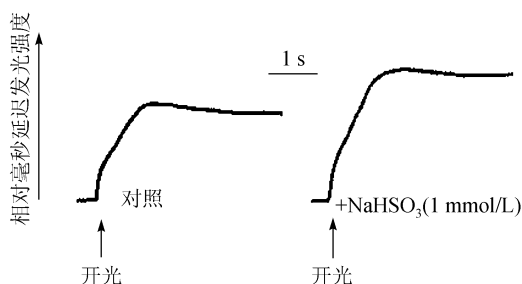


图 5 NaHSO_3 对 J411 小麦旗叶毫秒延迟发光的影响

前一日下午 4:30 喷 1 mmol/L NaHSO_3 (对照喷水), ■ 第 2 天上午测定

因而共同处理未表现出叠加效应.

2.3 NaHSO_3 处理叶片对其毫秒延迟发光的促进作用

叶绿素的毫秒延迟发光可以反映与光合磷酸化密切有关的跨类囊体膜质子动力势的状况^[12, 13]. 我们过去研究 NaHSO_3 对离体叶绿体光合磷酸化的影响时, 观察到 NaHSO_3 处理可提高叶绿体毫秒延迟发光的强度^[6]. 我们自装了可用于测定叶片内叶绿体的质子动力势变化的毫秒延迟发光仪^[9], 利用它来研究 NaHSO_3 处理对叶片内叶绿体的毫秒延迟发光的影响 (图 5). 结果表明, NaHSO_3 处理显著提高了毫秒延迟发光慢相 (主要反映类囊体内外质子梯度) 的强度. 这也从另一个侧面反映了 NaHSO_3 的确增加了叶片内叶绿体形成 ATP 的能力.

3 讨论

对作物喷洒 NaHSO_3 以提高其光合速率和增加产量的办法在我国已经过广泛试用, 有希望成为一个价廉、易行、无害、有效而在农业生产中可推广应用的好措施. 为了使此技术具有较扎实的理论基础, 必须阐明其提高光合作用的原因. 我们^[5]的研究表明, 在体内 NaHSO_3 并没有抑制光呼吸的功能. 在离体实验中, 我们看到它有促进光合磷酸化的作用, 但不知它在体内提高光合速率是否就是由此作用引起的^[5, 6]. 本文的目的就是力求了解 NaHSO_3 提高叶片光合速率的现象是否伴随着它促进叶片内的光合磷酸化.

将叶绿体从叶片中提取出来研究, 便于在排除活体内其他影响的情况下进行各种处理和

测定,明确一些问题,可是由于离体实验会引起微环境剧变和简化使得到的结果常会不能正确反映活体内的真实关系.这在光合作用研究中已有不少先例,如:光合碳同化的关键酶——核酮糖二磷酸羧化酶从光合细胞分离出来后,其活性很低,与在体内的生理功能不符.人们追究其原因,才发现它在体内有一系列调节活性的步骤^[14];宏育群等人^[15]观察到与光合磷酸化有关的跨类囊体膜的质子梯度在体内常是区域化的,和离体时不一样;过去 Zelitch 从离体实验推测 NaHSO_3 在体内可通过抑制光呼吸而提高光合速率的推测被证明是不正确的^[5],也说明了这一点.近几年来光合作用研究的发展趋势就是努力将离体实验和体内探讨结合起来,以便深入地揭示光合作用的奥秘^[16].我们利用本实验室近几年发展起来的一些研究体内光合磷酸化的方法,试图分析 NaHSO_3 处理叶片提高光合速率的原因是否和促进光合磷酸化而增加 ATP 的供应有关.从处理后叶片中在光下 ATP 含量的提高、叶片毫秒延迟发光所反映和光合磷酸化活力有关的类囊体膜内外质子梯度的增加,以及用 NaHSO_3 和用已知可促进循环光合磷酸化的辅助因子 PMS 共同处理对叶片的光合速率提高无叠加效应等结果来看,都表明 NaHSO_3 处理叶片提高其光合速率的原因可能主要就是它促进了光合磷酸化,增加了 ATP 供应的缘故.此结果与过去我们用离体叶绿体研究它对光合磷酸化影响的实验所观察到的现象大致相符^[5, 6],但也有些差别.过去的离体实验说明, NaHSO_3 在弱光下可促进光合磷酸化,在强光下则不显著,而在本文中我们观测到在体内 NaHSO_3 在强光下仍能有效地提高其光合速率(图3).由于 NaHSO_3 在植物体内可发生多种氧化还原反应,甚至可能被叶片同化成为硫酸,因此, NaHSO_3 在体内促进光合磷酸化和光合速率的详细作用机理值得进一步研究.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:39790040)重点项目和国家重点基础研究规划项目.

参 考 文 献

- 1 Zelitch I. α -Hydroxysulfonates as inhibitors of the enzymic oxidation of glycolic and lactic acids. *J Biol Chem*, 1957, 224: 251~260
- 2 Zelitch I. Increased rate of net photosynthetic carbon dioxide uptake caused by the inhibition of glycolate oxidase. *Plant Physiol*, 1966, 41: 1623~1631
- 3 沈允钢,李德耀,魏家绵,等.改进干重法测定光合作用的应用研究. *植物生理学通讯*, 1980, 2: 37~41
- 4 张贤泽,庞士铨.亚硫酸氢钠对大豆的增产作用. *中国农业科学*, 1984, 1: 36~39
- 5 谭 实,沈允钢.亚硫酸氢钠对光合机构及其运转的影响. *植物生理学报*, 1987, 13: 42~50
- 6 魏家绵,沈允钢,李德耀,等.亚硫酸氢钠在低光强下对叶绿体循环光合磷酸化的促进作用. *植物生理学报*, 1989, 15: 101~104
- 7 许大全,李德耀,邱国雄,等.毛竹叶光合作用的气孔限制研究. *植物生理学报*, 1987, 13: 154~160
- 8 王维光.生物发光法测定三磷酸腺苷(ATP). *植物生理学实验手册*.上海:上海科学技术出版社, 1985. 115~117
- 9 李德耀,沈允钢.质子动力势各组成部分与光合作用的关系. *科学通报*, 1994, 39(18): 1712~1715
- 10 徐宝基,李德耀,沈允钢.低浓度硫酸甲酯吩嗪(PMS)对叶片光合放氧的促进作用. *植物生理学报*, 1989, 15(3): 307~312
- 11 郭连旺,张 炎,沈允钢.将处理物质从叶柄引入叶片的方法探讨. *植物生理通讯*, 1994, 30(5): 360~362
- 12 Wraight C A, Crofts A R. Delayed light emission and high energy state of chloroplasts. *Eur J Biochem*, 1971, 19: 386~397
- 13 徐春和,沈允钢.叶绿体毫秒延迟发光的快相变化与水氧化时质子释放的关系的研究. *中国科学, B 辑*, 1983, (9): 802~810
- 14 Weissbach A, Horecker B L, Hurwitz J. The enzymatic formation of phosphoglyceric acid from ribulose diphosphate and carbon dioxide. *J Biol Chem*, 1956, 218: 795~810
- 15 Hong Y Q, Junge W. Localized or delocalized protons in photophosphorylation? *Biochim Biophys Acta*, 1983, 722: 197~208
- 16 Morrison B C, Critchley C. Relationship between photosynthetic and turnover of the D1 protein of PS II. In: Garab G, ed. *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. 3671~3674

(1999-07-01 收稿, 1999-11-22 收修改稿)