

DOI: 10.5846/stxb201712212296

厉书豪, 李曼, 张文东, 李仪曼, 艾希珍, 刘彬彬, 李清明. CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合特性及活性氧代谢的影响. 生态学报, 2019, 39(6): - .

Li S H, Li M, Zhang W D, Li Y M, Ai X Z, Liu B B, Li Q M. Effects of CO₂ enrichment on photosynthetic characteristics and reactive oxygen species metabolism in leaves of cucumber seedlings under salt stress. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(6): - .

CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合特性及活性氧代谢的影响

厉书豪¹, 李 曼¹, 张文东¹, 李仪曼¹, 艾希珍^{1,2}, 刘彬彬², 李清明^{1,2,3,*}

1 山东农业大学园艺科学与工程学院, 泰安 271018

2 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018

3 农业部黄淮海设施农业工程科学观测实验站, 泰安 271018

摘要:以‘津优 35 号’黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 水培苗为试材, 采用裂区设计, 主区因素为 CO₂ 浓度处理, 设大气 CO₂ 浓度 (≈400 μmol/mol) 和 CO₂ 加富 [(800±40) μmol/mol] 2 个 CO₂ 浓度水平, 裂区因素为盐胁迫处理, 用 NaCl 模拟盐胁迫, 设对照 (0 mmol/L NaCl)、盐胁迫 (80 mmol/L NaCl) 2 个盐分水平, 研究了 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗生长、光合特性及活性氧代谢的影响。结果表明: 盐胁迫显著抑制黄瓜幼苗的生长, 并降低了叶绿素含量、ETR、Φ_{PSII}、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶 (RuBPCase) 活性及净光合速率; 盐胁迫增加了丙二醛及活性氧的累积, 与此同时也提高了脯氨酸含量及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性, 但降低了过氧化物酶 (POD) 活性。CO₂ 加富显著提高了盐胁迫下黄瓜幼苗的株高、茎粗、叶面积及地上部鲜重, 降低了叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素及叶绿素 (a+b) 含量, 但显著提高了净光合速率和 RuBPCase 活性, 同时降低了气孔导度及蒸腾速率, 并且使其具有较高的表观电子传递速率及 PSII 实际光化学效率; CO₂ 加富显著提高了盐胁迫下黄瓜幼苗叶片脯氨酸含量及 SOD、POD、CAT 活性, 丙二醛、过氧化氢含量和超氧阴离子产生速率显著降低。综上所述, CO₂ 加富可通过提高幼苗叶片净光合速率、脯氨酸含量及抗氧化酶活性, 降低蒸腾速率、减少丙二醛含量及活性氧的积累, 从而缓解盐胁迫对黄瓜植株造成的伤害。

关键词: 黄瓜; 盐胁迫; CO₂ 加富; 光合特性; 活性氧代谢

Effects of CO₂ enrichment on photosynthetic characteristics and reactive oxygen species metabolism in leaves of cucumber seedlings under salt stress

LI Shuhao¹, LI Man¹, ZHANG Wendong¹, LI Yiman¹, AI Xizhen^{1,2}, LIU Binbin², LI Qingming^{1,2,3,*}

1 College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

2 State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, China

3 Scientific Observing and Experimental Station of Environment Controlled Agricultural Engineering in Huang-Huai-Hai Region, Ministry of Agriculture, Tai'an 271018, China

Abstract: We investigated the effects of CO₂ enrichment on photosynthetic characteristics and metabolism of reactive oxygen species in the leaves of cucumber (*Cucumis sativus* L. ‘Jinyou No.35’) seedlings under salt stress. In the split-plot design used, the main treatment consisted of two CO₂ concentration levels [ambient [CO₂] ≈ 400 μmol/mol and enriched [CO₂] = (800 ± 40) μmol/mol] and the subplot had two levels of salinity treatment (0 and 80 mmol/L NaCl). The results showed that after 7 days of experimental treatment, salt stress caused a significant reduction in growth rate (i.e., increase in plant

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31471918); “十二五”国家科技支撑计划项目 (2014BAD05B03); 山东省重点研发计划项目 (2017CXGC0201) 和山东省农业重大应用技术创新项目 (鲁财农指[2016]36 号)

收稿日期: 2017-12-21; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gslqm@sdau.edu.cn

height, stem thickness, leaf area, and the growth of both shoot and root), ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (RuBPCase) activity, net photosynthetic rate (P_n) of the leaves, stomatal conductance (G_s), and transpiration rate (T_r) of cucumber seedlings. Salt stress decreased the chlorophyll [chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, and chlorophyll (a+b)] content, electron transport rate (ETR), quantum of PSII (Φ_{PSII}), and photochemical quenching (qP) but markedly increased non-photochemical quenching (NPQ); there were no significant differences in chlorophyll a/b and maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) between control and salt stress treatments. Moreover, the portion of excessive energy in the photosystem II (PSII) reaction center was enhanced by salt stress that increased the rate of production of the superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) content in the leaves of cucumber seedlings. Subsequently, this resulted in an increase in malondialdehyde (MDA) content, permeability of cell membranes, and osmoticum (proline) content. Changes in antioxidative enzyme activities of cucumber seedling leaves differed between the salt stress and elevated $[CO_2]$ treatments. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities increased while peroxidase (POD) activity decreased in cucumber seedling leaves treated with salt stress. However, the activity of antioxidative enzymes (such as SOD, POD, and CAT) and proline content were enhanced by elevated $[CO_2]$. Therefore, we can speculate that reactive oxygen species (ROS) quenching was limited under salt stress, leading to their accumulation and serious lipid peroxidation. However, elevated $[CO_2]$ reduced the content of MDA, H_2O_2 , and the rate of $O_2^{\cdot-}$ production in cucumber seedling leaves under salt stress. ROS was eliminated by antioxidative enzymes under elevated $[CO_2]$, therefore, lipid peroxidation damage was less than that caused by salt stress. Elevated $[CO_2]$ increased the plant height, stem thickness, leaf area, and shoot fresh weight of cucumber seedlings significantly under salt stress. Additionally, elevated $[CO_2]$ decreased the content of chlorophyll [chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, and chlorophyll (a+b)], stomatal conductance, and transpiration rate but markedly increased P_n , ETR, Φ_{PSII} , and RuBPCase activity in leaves of cucumber seedlings under salt stress. In conclusion, elevated $[CO_2]$ alleviated the negative effects of salt stress and enhanced the resistance of cucumber plant growth to salt stress through enhanced P_n , cellular membrane stability, proline content, and antioxidative enzyme activities while transpiration rate, MDA content, and accumulation of ROS were reduced.

Key Words: cucumber; salt stress; CO_2 enrichment; photosynthetic characteristics; reactive oxygen species metabolism

全国各类盐渍土总面积约 9913.3 万 hm^2 , 约占全国土壤总面积的 13.4%^[1]。盐对作物产生的毒害除了渗透胁迫和离子毒害, 还会引起养分亏缺、活性氧伤害等一系列次生胁迫^[2], 最终抑制植物生长。近年来, 我国设施栽培面积不断扩大, 但由于设施环境相对密闭的特点, 土壤常年得不到雨水淋洗, 加之周年生产, 盐分在土壤表层累积, 土壤盐渍化已经成为制约作物生长的主要非生物胁迫之一^[3]。并且设施自身相对密闭性, 除了易造成设施土壤盐渍化, 还常使作物处于 CO_2 饥饿状态, 成为限制光合作用及产量的重要因素之一^[4]。与此同时, 随着世界人口持续增长和经济活动的增加, 目前大气 CO_2 浓度已达到 400 $\mu mol/mol$, 预计 2100 年将上升至 730—1020 $\mu mol/mol$ ^[5]。对 C_3 植物来说, 最适 CO_2 浓度约为 1000 $\mu mol/mol$, 在现有条件下其光合速率受到限制, 因此 CO_2 浓度升高对 C_3 植物而言具有显著的“ CO_2 施肥效应”。 CO_2 作为植物光合作用的原料, 其浓度高低直接影响 Rubisco 催化活性和方向、调节电子传递速率, 进而影响植物光合速率和活性氧代谢^[6]。黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是我国栽培面积最大的蔬菜作物之一, 对盐分十分敏感, 盐胁迫抑制黄瓜幼苗植株的生长及光合电子传递、降低叶片净光合速率^[7], 严重加剧膜脂过氧化程度^[8]。前人研究结果表明, 高 CO_2 浓度可显著促进盐胁迫下大麦、花椰菜和甜椒植株生长^[9-11], 提高植株水分利用效率^[12] 及叶片抗氧化酶活性、降低丙二醛 (MDA) 含量^[13-14], 从而对盐胁迫造成的损伤具有一定缓解作用。但高 CO_2 浓度对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合特性及活性氧代谢的影响, 鲜见报道。本文以黄瓜幼苗为研究对象, 在 CO_2 加富和盐胁迫条件下, 对其生长、光合特性和活性氧代谢相关酶进行了研究, 以期进一步阐明 CO_2 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗氧化损伤的缓解机理, 为设施 CO_2 施肥在土壤次生盐渍化引起的连作障碍中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

试验于 2017 年 3—5 月在山东农业大学园艺实验站进行,以‘津优 35 号’黄瓜(*Cucumis sativus* L.)为试材。种子经浸种催芽后,播于穴盘中育苗,基质以草炭、蛭石、珍珠岩按 3:1:1 比例配制。待幼苗第 1 片真叶完全展开时,选择整齐一致的幼苗定植于内径为 37.5 cm×29 cm、高为 12 cm 的涂黑的塑料盆中进行水培,每盆 6 株。营养液为 1 个剂量的山崎黄瓜营养液配方,试验期间,营养液用气泵通气,每 3 min 通气 30 s,4 d 更换 1 次营养液。

试验采用裂区设计,主区因素为 CO₂浓度处理,设大气 CO₂浓度($\approx 400 \mu\text{mol/mol}$)和 CO₂加富[(800 ± 40) $\mu\text{mol/mol}$]2 个 CO₂浓度水平,裂区因素为盐胁迫处理,用 NaCl 模拟盐胁迫,设对照(0 mmol/L NaCl)、盐胁迫(80 mmol/L NaCl)2 个盐分水平。每处理重复 10 次,每个重复 1 盆,待幼苗长至 2 叶 1 心时进行处理。试验在自行设计的顶通风式塑料拱棚(长 6 m,宽 6 m,脊高 2.6 m)内进行,棚内装有环境控制系统,加富处理的 CO₂由液态 CO₂钢瓶供给。CO₂浓度由自动控制系统控制(Auto 2000,北京奥托),当监测系统监测到 CO₂浓度低于设置的下限值时,开启电磁阀补气,使其浓度保持在(800 ± 40) $\mu\text{mol/mol}$ 。

1.2 测定指标与方法

处理第 8 天,取从下往上数第 3 片功能叶测定各项生理指标,重复 3 次。

株高:用直尺测定从子叶下方到生长点的距离;茎粗:用游标卡尺测定子叶下方基部的直径;叶面积:用直尺测定完全展开叶的单叶叶长(L_L),用公式 $S_L = L_L^2$ 计算单叶叶面积^[15],单株叶面积为所有完全展平叶叶面积之和。鲜干重:用去离子水冲洗干净并吸干水分,从根茎结合处剪断,分别称得地上、地下部鲜重;105℃杀青 15 min,80℃烘至恒重,称得干重。

采用美国 LI-COR 公司生产的 LI-6400XT 便携式光合测定系统测定光合参数。测定条件为:光强 $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,CO₂气体利用缓冲瓶采自相对稳定的 3—4 m 高的空气,浓度约为 $400 \pm 10 \mu\text{mol/mol}$ 。

采用英国 Hansatech 公司生产的 FM-2 型调制式叶绿素荧光仪测定叶绿素荧光参数。

核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBPCase)活性采用 ELISA 试剂盒(上海邦奕)测定;叶绿素含量采用 80%丙酮浸提法测定^[16];脯氨酸含量采用茚三酮-磺基水杨酸法测定^[17];丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法测定;超氧阴离子自由基(O₂⁻)产生速率采用羟胺氧化法测定^[18];过氧化氢(H₂O₂)含量采用硫酸钛-硫酸法测定^[19];超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑光还原法测定、过氧化物酶(POD)活性采用氧化愈创木酚比色法测定^[17];过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定^[20]。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2007 和 DPS 软件对数据进行处理、显著性分析(Duncan's 多重极差检验, $\alpha = 0.05$),并采用 SigmaPlot 10.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗生长的影响

由表 1 可以看出,盐胁迫抑制了黄瓜幼苗的生长,差异达显著水平。在大气 CO₂浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其株高、茎粗、叶面积、地上、地下部鲜干重较对照分别降低了 45.0%、24.4%、54.2%、44.1%、35.3%、42.3%、35.6%;而 CO₂加富可在一定程度上缓解盐胁迫对黄瓜幼苗植株的抑制作用。具体表现在,盐胁迫下 CO₂加富使其各指标较大气 CO₂浓度分别增加了 13.1%、5.9%、10.5%、31.5%、15.9%、36.1%、8.9%,除地上部干重和地下部鲜干重外,差异均达显著水平。

2.2 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片色素含量的影响

由表 2 可以看出,盐胁迫下黄瓜幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、叶绿素(a+b)含量降低,差异

达显著水平,但对叶绿素 a/b 影响不大。在大气 CO₂ 浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、叶绿素(a+b)含量较对照分别降低了 8.7%、10.6%、12.0%、9.3%;而 CO₂ 加富使盐胁迫下叶片叶绿素 a 含量显著下降,其它色素含量均未达显著水平。

表 1 CO₂ 加富对盐胁迫下加富对黄瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effects of CO₂ enrichment on the plant growth of cucumber seedlings under salt stress

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration/ (μmol/mol)	NaCl 浓度 NaCl concentration/ (mmol/L)	株高 Plant height/ cm	茎粗 Stem thickness/ mm	叶面积 Leaf area/ (cm ² /株)	鲜重 Fresh weight/(g/株)		干重 Dry weight/(g/株)	
					地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root
400	0	27.36±0.66b	7.242±0.215b	862.98±4.88b	35.01±2.31b	16.06±0.98a	3.50±0.24b	0.87±0.18ab
	80	15.04±0.60d	5.471±0.113d	395.21±29.18d	19.58±0.61de	10.39±0.54b	2.02±0.05c	0.56±0.06c
800	0	30.19±0.35a	7.506±0.080a	935.13±25.43a	43.33±4.32a	17.94±2.65a	4.50±0.74a	0.92±0.12a
	80	17.01±0.90c	5.795±0.144c	436.75±16.11c	25.75±0.40c	12.04±1.13b	2.75±0.12bc	0.61±0.03bc

同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

表 2 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片色素含量的影响

Table 2 Effects of CO₂ enrichment on chlorophyll content in leaves of cucumber seedlings under salt stress

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration/ (μmol/mol)	NaCl 浓度 NaCl concentration / (mmol/L)	叶绿素 a Chlorophyll a/ (mg/g FW)	叶绿素 b Chlorophyll b (mg/g FW)	类胡萝卜素 Carotenoid (mg/g FW)	叶绿素 a+b Chlorophyll a+b (mg/g FW)	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b
400	0	1.809±0.078a	0.729±0.035a	0.648±0.025a	2.539±0.114a	2.482±0.014a
	80	1.651±0.028b	0.652±0.019bc	0.570±0.009bc	2.303±0.047bc	2.533±0.030a
800	0	1.694±0.032b	0.687±0.024ab	0.593±0.014b	2.381±0.055b	2.467±0.040a
	80	1.534±0.009c	0.621±0.006c	0.543±0.010c	2.154±0.013c	2.471±0.022a

2.3 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性的影响

由图 1 可以看出,盐胁迫抑制了黄瓜幼苗叶片核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBPCase)活性,差异达显著水平。在大气 CO₂ 浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其羧化酶活性较对照下降 22.9%;而 CO₂ 加富提高了盐胁迫下羧化酶活性,差异达显著水平。

2.4 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合气体交换参数的影响

由表 3 可以看出,盐胁迫抑制了黄瓜幼苗叶片光合作用,差异达显著水平。在大气 CO₂ 浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)较对照分别下降了 13.7%、31.3%、2.8%、11.3%;而盐胁迫下 CO₂ 加富使其 P_n 较对照增高了 8.7%, G_s 、 C_i 、 T_r 分别下降了 16.1%、6.2%、13.0%,除 C_i 外,差异均达显著水平。说明 CO₂ 加富可降低叶片气孔导度,从而减少水分耗散,同时增强净光合速率,进而提高光合水分利用率,以此适应盐胁迫。

2.5 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光参数参数的影响

由表 4 可以看出,盐胁迫使黄瓜幼苗叶片非光化学淬灭系数(NPQ)显著上升,PSII 实际光化学效率(Φ_{PSII})、表观电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(qP)显著下降。80 mmol/L NaCl 处理时,在大气 CO₂ 浓度下,NPQ 较正常条件下上升了 75.4%,PSII 最大光化学效率(F_v/F_m)、 Φ_{PSII} 、ETR、 qP 则分别下降了 2.7%、

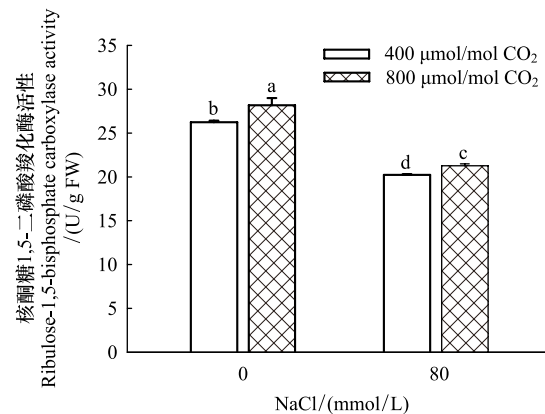


图 1 CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片 RuBPCase 活性的影响

Fig.1 Effects of CO₂ enrichment on RuBPCase activity in leaves of cucumber seedlings under salt stress

15.4%、15.4%、7.8%;而 CO₂加富可提高盐胁迫下黄瓜叶片 Φ_{PSII} ,恢复光系统 II(PSII)光化学活性,使其 Φ_{PSII} 、ETR、 qP 较大气 CO₂浓度分别上升 7.8%、7.8%、3.3%,NPQ 下降 21.6%,除 qP 、NPQ 外,差异均达显著水平,但对 F_v/F_m 影响不大。

表 3 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合气体交换参数的影响

Table 3 Effects of CO₂ enrichment on photosynthetic gas exchange parameters in leaves of cucumber seedlings under salt stress

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration/ ($\mu\text{mol/mol}$)	NaCl 浓度 NaCl concentration/ (mmol/L)	净光合速率 P_n Net photosynthetic rate/ ($\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1}$)	气孔导度 G_s Stomatal conductance/ ($\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-1}$)	胞间 CO ₂ 浓度 C_i Intercellular CO ₂ concentration/ (mmol/mol)	蒸腾速率 T_r transpiration rate/ (mmol m ⁻¹ s ⁻¹)
400	0	19.97±0.85b	0.705±0.055a	309.67±3.79a	10.53±0.40a
	80	17.23±1.00d	0.484±0.045b	301.00±2.00ab	9.34±0.54b
800	0	20.90±0.61a	0.523±0.053b	299.00±19.05ab	9.42±1.04b
	80	18.73±0.97c	0.406±0.013c	282.33±2.08b	8.13±0.49c

表 4 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 4 Effects of CO₂ enrichment on chlorophyll fluorescence parameters in leaves of cucumber seedlings under salt stress

CO ₂ 浓度 CO ₂ concentration/ ($\mu\text{mol/mol}$)	NaCl 浓度 NaCl concentration/ (mmol/L)	PSII 最大光 化学效率 maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m)	PSII 实际光 化学效率 Quantum of PSII (Φ_{PSII})	表观光合电 子传递速率 Electron transport rate (ETR)	光化学淬灭系数 Photochemical quenching (qP)	非光化学淬灭 Non-photochemical quenching (NPQ)
400	0	0.829±0.021a	0.656±0.019a	220.41±6.48a	0.897±0.008a	0.481±0.092bc
	80	0.806±0.042a	0.555±0.011c	186.41±3.85c	0.827±0.050b	0.844±0.096a
800	0	0.831±0.008a	0.687±0.002a	230.72±0.70a	0.912±0.004a	0.412±0.076c
	80	0.818±0.018a	0.598±0.024b	201.04±7.96b	0.854±0.035ab	0.661±0.048ab

2.6 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片脯氨酸、丙二醛、活性氧的影响

由图 2 可以看出,盐胁迫下黄瓜幼苗叶片脯氨酸、丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)含量升高,差异达显著水平。在大气 CO₂浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其脯氨酸、MDA、过氧化氢(H₂O₂)含量和超氧阴离子自由基(O₂⁻)生成速率较对照分别升高 90.2%、37.7%、18.8%、56.7%;而 CO₂加富进一步促进了盐胁迫下脯氨酸的合成,抑制了 MDA 和 H₂O₂积累及 O₂⁻生成速率,使其脯氨酸含量较大气 CO₂浓度升高了 13.0%,MDA 和 H₂O₂积累量及 O₂⁻生成速率分别降低了 19.2%、15.9%、15.7%,差异达显著水平。说明 CO₂加富可通过促进黄瓜幼苗叶片脯氨酸的积累,同时降低 MDA 及 ROS 的积累,减少膜脂的过氧化,从而提高植株耐盐能力。

2.7 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

由图 3 可以看出,盐胁迫对黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性影响显著。在大气 CO₂浓度下,80 mmol/L NaCl 处理使其超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性较对照分别提高了 10.3%、34.2%,但过氧化物酶(POD)活性下降了 50.7%;而 CO₂加富进一步提高了盐胁迫下 SOD、CAT 活性,与此同时也提高了 POD 活性,使其 SOD、POD、CAT 活性较大气 CO₂浓度分别提高了 8.2%、62.9%、24.9%,差异达显著水平。说明 CO₂加富可通过提高黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性,清除活性氧累积,从而缓解盐胁迫对膜造成的损伤。

3 讨论

盐胁迫会影响植物生长发育过程,抑制植株生长,导致生物量减少^[21]。本试验结果表明,80 mmol/L NaCl 处理抑制了黄瓜幼苗的生长水平(表 1),而 CO₂加富缓解了盐胁迫对黄瓜幼苗植株地上部的抑制作用,这与前人在黄瓜和花椰菜上的研究结果类似^[22-23]。

叶绿体是植物进行光合作用的场所,其色素含量及组分直接影响光合作用。本试验结果表明,80 mmol/L

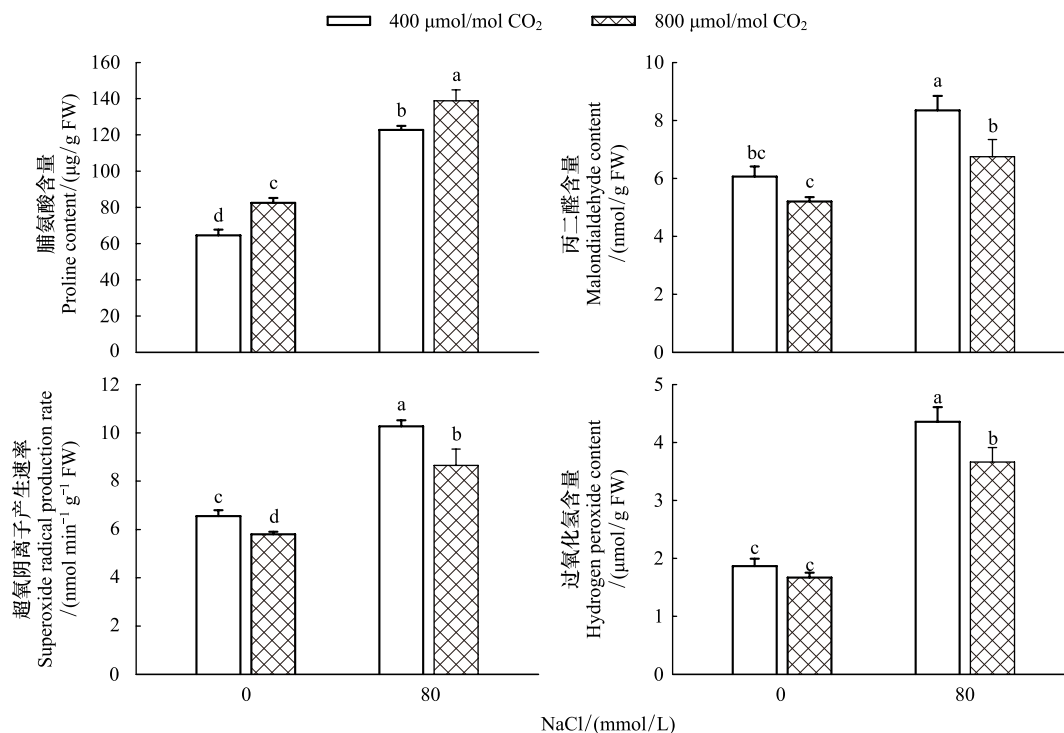


图2 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片脯氨酸、MDA、O₂⁻和H₂O₂的影响

Fig.2 Effects of CO₂ enrichment on contents of Pro, MDA, H₂O₂ and rate of O₂⁻ production in leaves of cucumber seedlings under salt stress

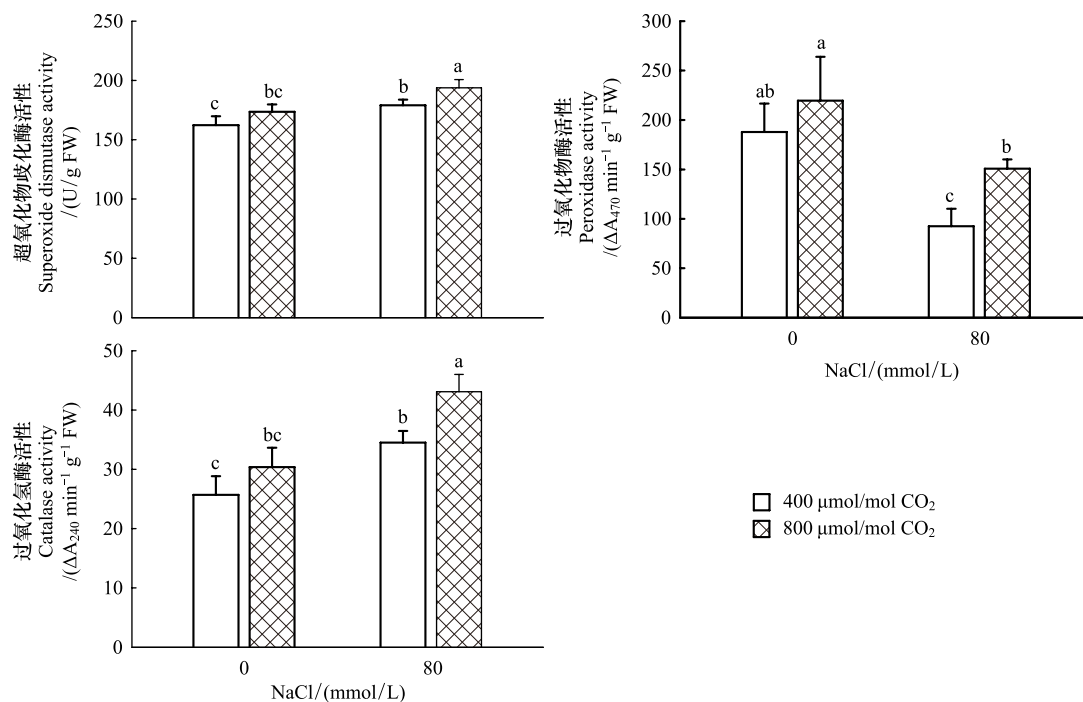


图3 CO₂加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

Fig.3 Effects of CO₂ enrichment on antioxidative enzyme activity in leaves of cucumber seedlings under salt stress

NaCl 处理降低了黄瓜幼苗叶片色素含量(表 2),这与杨凤军等人在番茄上的研究结果一致^[24]。前人研究认为,渗透胁迫降低植株叶片色素含量的主要原因是活性氧(ROS)的氧化作用^[25],盐胁迫增加了 ROS 的积累(图 2),从而促进色素的降解。有研究表明 CO₂加富提高了小麦和枇杷叶片色素含量^[26-27],但本试验结果显示,CO₂加富降低了黄瓜幼苗叶片色素含量,这与 Pérez-López、宝俐、袁嫚嫚等人研究结果一致^[28-30],究其原因可能主要与 CO₂加富下叶面积增大(表 1)引起的“稀释效应”有关。

光合作用是构成作物生产力的基础,盐胁迫抑制作物光合作用引起 P_n 下降,影响光合碳同化,不利作物生长。本试验结果表明,80 mmol/L NaCl 处理,在降低黄瓜幼苗叶片 P_n 和 G_s (表 3)的同时,提高了 H₂O₂ 含量(图 2)。植物细胞 H₂O₂ 水平升高,可促进保卫细胞 K⁺ 外流和胞外 Ca²⁺ 内流,引起气孔关闭^[31],限制大气 CO₂ 进入叶片叶绿体,从而引起气孔限制。与此同时,对叶绿素荧光参数分析得知,80 mmol/L NaCl 处理,显著降低了 Φ_{PSII} 、ETR 和 qP (表 4),说明盐胁迫抑制了光合电子传递及光合磷酸化的正常进行,阻止同化力的生成,从而影响碳同化。而 CO₂加富虽然降低了 G_s ,但同时也提高了 CO₂扩散动力(即大气 CO₂与叶绿体 CO₂浓度差),因此在测定条件下,并未发现 C_i 有明显变化;并且 RuBPCase 作为光合碳同化的关键酶,CO₂加富提高了其活性(图 1),与此同时,提高了 Φ_{PSII} 、ETR,并在一定程度上提高了 qP ,降低了 NPQ,从而促进光化学效率和电子传递速率,保证同化力的正常生成,进而提高了 P_n ,从而为植物体提供更多的糖源,促进植株生长,削弱了盐胁迫对其光合和生长产生的不利影响,这与 Zaghoud 和 Piñero 等人研究结果一致^[9-10];并降低了 T_r ,提高光合用水效率,但 G_s 降低的节水效应会被叶面积增加和 CO₂加富后期叶温增高的耗水作用所抵消。

另外,结合表 2 发现,CO₂加富提高叶片 P_n 的同时,降低了叶绿素含量,这一结果似乎与常识相悖。事实上,只有在弱光条件下,叶片 P_n 才与叶绿素含量存在良好的正相关性,而饱和光强下叶片 P_n 通常与叶绿素含量无直接关系^[32]。并且 P_n 是在饱和光强下测得,此时主要的限制因子应该是 CO₂浓度,而非叶绿素含量。Chen 等人通过对两种不同基因型水稻的研究发现,虽然黄绿叶突变体水稻的叶绿素含量仅为野生型 1/3,但在饱和光强下,两者 P_n 一样^[33]。说明由于叶绿素含量的不足引起的对光合作用的不利影响可以通过增加光强得以弥补。本试验中,CO₂加富虽然在一定程度上降低了叶片叶绿素含量,但对叶绿素 a/b 比值并无明显影响,表明捕光能力并未受到影响^[29],同时 CO₂加富提高了 Rubisco 羧化效率,因此在叶绿素含量相对较低的情况下表现出较高的 P_n 。

ROS 是由膜系统上的氧化酶催化产生的一类活性含氧化合物,高浓度的 ROS 能引起 DNA、蛋白质和脂质过氧化,破坏膜结构^[34]。MDA 作为膜脂过氧化的重要产物之一,能加剧膜的损伤。在正常生理状态下,抗氧化酶系统可使 ROS 的产生和消除维持在一种动态平衡状态。本试验结果表明,80 mmol/L NaCl 处理增加了黄瓜幼苗叶片脯氨酸、ROS 及 MDA 的积累量(图 2),同时也提高了 SOD、CAT 活性,但使 POD 活性下降(图 3),这与张琴等人研究结果一致^[14],说明其在一定程度上制约和调控了 ROS 水平,诱导植物细胞对盐胁迫做出适应性反应。脯氨酸作为相容性物质,主要分布于线粒体及细胞质基质中,从而维持胞质与胞液间渗透压差,使渗透胁迫下叶片叶绿体和线粒体保持良好的水分状态,保证光合和呼吸作用的正常进行^[35]。CO₂加富进一步提高了盐胁迫下脯氨酸含量及抗氧化酶活性,并降低了 ROS 和 MDA 积累量,从而减轻 ROS 的毒害作用,维持 ROS 产生与清除平衡,表明 CO₂加富下抗氧化酶活性的提高与 ROS 水平无关,这与 Pérez-López 在大麦上的研究结果类似,同时他们研究发现植物体通过调控不同同工酶活性的表达,从而影响抗氧化酶总活性,以此适应盐胁迫^[13]。并且高 CO₂浓度可通过抑制光呼吸,从而减少过氧化物中 H₂O₂的生成,并通过提高叶绿体光系统 I(PSI)内氧化型辅酶 II(NADP⁺)的利用率,限制 Mehler 反应,以利于生成更多的还原型辅酶 II(NADPH)用于抗坏血酸-谷胱甘肽循环,进而诱导抗氧化酶活性^[36]。众所周知,SOD 可促进 O₂⁻ 转化成 H₂O₂,因此在某种程度上,SOD 活性的增强能加速 H₂O₂累积。H₂O₂作为 ROS 之一,在相对较低浓度下便可使光合作用失活,显著抑制 CO₂同化能力。结合图 2 和图 3 数据分析可知,CO₂加富虽然提高了 SOD 活性,并降低了 O₂⁻ 产生速率,但由于 CAT、POD 活性也得以增强,所以在本试验中 H₂O₂含量较单独盐胁迫反倒下降。与此同时,CO₂加富活化了脯氨酸的生物合成,钝化了其氧化降解能力,使其在细胞内大量累积,提高了复合蛋

白和膜系统稳定性,从而保护和修复叶绿体 PSII 在逆境中的伤害^[37],维持其电子传递作用。

综上所述,CO₂加富能通过提高 Φ_{PSII} 和 qP ,降低 NPQ,恢复 PSII 光化学活性;提高 RuBPCase 活性进而促进 P_n ,并通过降低 T_r ,提高水分利用效率;提高 SOD、POD、CAT 活性及脯氨酸水平,抑制 MDA、O₂^{·-} 和 H₂O₂ 的积累量,防止膜脂过氧化,从而缓解盐胁迫对黄瓜幼苗造成的不利影响,提高其耐盐能力。这为缓解设施土壤次生盐渍化引起的连作障碍提供了理论依据和技术参数。

参考文献 (References):

- [1] 李彬, 王志春, 孙志高, 陈渊, 杨福. 中国盐碱地资源与可持续利用研究. 干旱地区农业研究, 2005, 23(2): 154-158.
- [2] 张新春, 庄炳昌, 李自超. 植物耐盐性研究进展. 玉米科学, 2002, 10(1): 50-56.
- [3] Allakhverdiev S I, Sakamoto A, Nishiyama Y, Inaba M, Murata N. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. Plant Physiology, 2000, 123(3): 1047-1056.
- [4] 袁会敏, 周健民, 段增强, 王火焰. CO₂浓度升高与增施钾肥对黄瓜生长的影响. 土壤, 2009, 41(6): 869-874.
- [5] 杨连新, 王云霞, 朱建国, Hasegawa T, 王余龙. 开放式空气中 CO₂浓度增高 (FACE) 对水稻生长和发育的影响. 生态学报, 2010, 30(6): 1573-1585.
- [6] Bowes G. Growth at elevated CO₂: photosynthetic responses mediated through Rubisco. Plant, Cell & Environment, 1991, 14(8): 795-806.
- [7] 严蓓, 孙锦, 束胜, 郭世荣. 外源钙对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片光合特性及碳水化合物代谢的影响. 南京农业大学学报, 2014, 37(1): 31-36.
- [8] 杨建军, 张国斌, 郁继华, 胡琳莉, 罗石磊, 牛童, 张婧. 盐胁迫下内源 NO 对黄瓜幼苗活性氧代谢和光合特性的影响. 中国农业科学, 2017, 50(19): 3778-3788.
- [9] Zaghdoud C, Carvajal M, Ferchichi A, del Carmen Martínez-Ballesta M. Water balance and N-metabolism in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) plants depending on nitrogen source under salt stress and elevated CO₂. Science of the Total Environment, 2016, 571: 763-771.
- [10] Piñero M C, Houdusse F, Garcia-Mina J M, Garnica M, del Amor F M. Regulation of hormonal responses of sweet pepper as affected by salinity and elevated CO₂ concentration. Physiologia Plantarum, 2014, 151(4): 375-389.
- [11] Pérez-López U, Robredo A, Lacuesta M, Mena-Petite A, Muñoz-Rueda A. The impact of salt stress on the water status of barley plants is partially mitigated by elevated CO₂. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(3): 463-470.
- [12] Melgar J C, Syvertsen J P, García-Sánchez F. Can elevated CO₂ improve salt tolerance in olive trees? Journal of Plant Physiology, 2008, 165(6): 631-640.
- [13] Pérez-López U, Robredo A, Lacuesta M, Sgherri C, Muñoz-Rueda A, Navari-Izzo F, Mena-Petite A. The oxidative stress caused by salinity in two barley cultivars is mitigated by elevated CO₂. Physiologia Plantarum, 2009, 135(1): 29-42.
- [14] 张琴, 朱祝军. 盐胁迫下 CO₂加富对黄瓜幼苗生理特性的影响. 耕作与栽培, 2015, (3): 31-32, 34-34.
- [15] 龚建华, 向军. 黄瓜群体叶面积无破坏性速测方法研究. 中国蔬菜, 2001, (4): 7-9.
- [16] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 1949, 24(1): 1-15.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [18] 汤章城. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999.
- [19] 赵世杰, 苍晶. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [20] Chance B, Maehly A C. Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology, 1955, 2: 764-775.
- [21] 周珩, 郭世荣, 邵慧娟, 陈新斌, 魏斌, 胡荣, 姜冬晨, 郑智航, 孙锦. 等渗 NaCl 和 Ca(NO₃)₂ 胁迫对黄瓜幼苗生长和生理特性的影响. 生态学报, 2014, 34(7): 1880-1890.
- [22] 张琴, 朱祝军. CO₂加富对盐胁迫下黄瓜生长及光合特性的影响. 浙江农业科学, 2009, (1): 45-47.
- [23] Zaghdoud C, Mota-Cadenas C, Carvajal M, Muries B, Ferchichi A, del Carmen Martínez-Ballesta M. Elevated CO₂ alleviates negative effects of salinity on broccoli (*Brassica oleracea* L. var Italica) plants by modulating water balance through aquaporins abundance. Environmental and Experimental Botany, 2013, 95: 15-24.
- [24] 杨风军, 李天来, 臧忠婧, 吴瑕. 等渗 NaCl、干旱胁迫对番茄幼苗光合特性及叶绿体超微结构的影响. 应用生态学报, 2017, 28(8): 2588-2596.
- [25] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用. 植物学报, 1994, 36(4): 289-295.
- [26] 张其德, 温晓刚, 卢从明, 冯丽洁, 匡廷云, 张建华. 盐胁迫下 CO₂加倍对春小麦一些光合功能的影响. 植物生态学报, 2000, 24(3): 308-311.

- [27] 张放, 陈丹, 张士良, 吴荣兰. 高浓度 CO₂ 对不同水分条件下枇杷生理的影响. 园艺学报, 2003, 30(6): 647-652.
- [28] Pérez-López U, Miranda-Apodaca J, Lacuesta M, Mena-Petite A, Muñoz-Rueda A. Growth and nutritional quality improvement in two differently pigmented lettuce cultivars grown under elevated CO₂ and/or salinity. Scientia Horticulturae, 2015, 195: 56-66.
- [29] 宝俐, 董金龙, 李汛, 段增强. CO₂ 浓度升高和氮素供应对黄瓜叶片光合色素的影响. 土壤, 2016, 48(4): 653-660.
- [30] 袁嫚嫚, 朱建国, 刘钢, 王伟露. 梗稻生育后期剑叶光合日变化和光合色素对大气 CO₂ 浓度和温度升高的响应——FACE 研究. 应用生态学报, 2018, 29(1): 167-175.
- [31] 简令成, 王红. 逆境植物细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2009.
- [32] 许大全. 叶绿素含量的测定及其应用中的几个问题. 植物生理学通讯, 2009, 45(9): 896-898.
- [33] Chen Y, Xu D Q. Two patterns of leaf photosynthetic response to irradiance transition from saturating to limiting one in some plant species. New Phytologist, 2006, 169(4): 789-798.
- [34] Low P S, Merida J R. The oxidative burst in plant defense: function and signal transduction. Physiologia Plantarum, 1996, 96(3): 533-542.
- [35] Maggio A, Reddy M P, Joly R J. Leaf gas exchange and solute accumulation in the halophyte *Salvadora persica* grown at moderate salinity. Environmental and Experimental Botany, 2000, 44(1): 31-38.
- [36] 任红旭, 陈雄, 吴冬秀. CO₂ 浓度升高对干旱胁迫下蚕豆光合作用和抗氧化能力的影响. 作物学报, 2001, 27(6): 729-736.
- [37] Park E J, Jeknić Z, Sakamoto A, Denoma J, Yuwansiri R, Murata N, Chen T H H. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in tomato protects seeds, plants, and flowers from chilling damage. The Plant Journal, 2004, 40(4): 474-487.