

锌、铜、钙对植物碳酸酐酶及荧光特性的影响

范怡雯, 喻理飞, 蔡国俊, 汪舒雅, 葛龙允
(贵州大学林学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 采用不同浓度的 Zn、Cu、Ca 溶液对贵州草海流域优势树种华山松、滇杨、白栎等 1 年生幼苗进行处理, 测定不同处理下各植物的碳酸酐酶(CA)活性、叶绿素含量及荧光参数的变化, 并分析其光合固碳能力。结果表明: (1) 随着 Zn 浓度的增加, 华山松幼苗的 CA 活性基本无变化, 白栎、滇杨幼苗的 CA 活性呈上升趋势, 3 个树种幼苗的叶绿素含量和荧光参数呈增加趋势; (2) 随着 Cu 浓度的增加, 华山松幼苗的 CA 活性基本无变化, 白栎、滇杨幼苗的 CA 活性呈先升高后降低的趋势, 3 个树种幼苗的叶绿素含量和 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值呈先增加后减少的趋势, qN 值呈先减小后增大的趋势; (3) 随着 Ca 浓度的增加, 3 个树种幼苗的 CA 活性和叶绿素含量呈先升高后降低的趋势, Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值呈先增大后减小的趋势, qN 值没有太大变化。说明适量施用 Zn、Cu、Ca 能够提高植物的 CA 活性和光合固碳能力, 这对优化喀斯特岩溶地区植物的固碳能力具有重要意义。

关键词: 植物幼苗; 金属; 碳酸酐酶; 光合荧光特性

中图分类号: Q945.78; Q948.11

文献标识码: A

文章编号: 1004-874X(2013)09-0032-04

Effect of Zinc, Copper, Calcium on carbonic anhydrase and fluorescence of plants

FAN Yi-wen, YU Li-fei, CAI Guo-jun, WANG Shu-ya, GE Long-yun
(College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: We Used different concentrations of zinc, copper, calcium to deal with three dominant tree species—*Pinus armandii*, *Populus yunnanensis* and White oak from Caohai of Guizhou, determined the carbonic anhydrase activity, chlorophyll content and fluorescence parameters of those plants and analyzed their impacts on the photosynthetic carbon sequestration capacity. The results showed that: (1) With the increase of the concentration of zinc, there was almost no change in carbonic anhydrase activity of *P. armandii*, but the carbonic anhydrase activity of *P. yunnanensis* and White oak increased, the chlorophyll content and fluorescence parameters of the three species also increased. (2) With the increase of the concentration of copper, there was almost no change in carbonic anhydrase activity of *P. armandii*, but the carbonic anhydrase activity of *P. yunnanensis* and White oak increased first and then decreased, the chlorophyll content and the parameter values of Y(II), ETR, qP, Fv/Fm of the three species also increased at first, then decreased. However, the qN of the three species decreased at first, then increased. (3) With the increase of the concentration of calcium, the carbonic anhydrase activity, chlorophyll content and the parameter values of Y(II), ETR, qP, Fv/Fm of the three species increased at first, then decreased. There was almost no change in the value of qN. Therefore, the application of zinc, copper, calcium can improve the carbonic anhydrase activity and photosynthetic carbon sequestration ability of plant, which is significant to the carbon sequestration ability optimization of the plant in karst areas.

Key words: plant seedlings; metal; carbonic anhydrase; photosynthetic fluorescence characteristics

碳酸酐酶(Carbonic anhydrase, CA, EC 4.2.1.1)是一种含 Zn²⁺的金属酶,广泛存在于动物、植物、细菌和微生物中。其主要生物学功能是催化 CO₂的可逆水合反应 CO₂+H₂O=H₂CO₃=HCO₃⁻+H⁺[1]。对大豆幼苗[2]、苹果属植物[3]、油菜、诸葛菜[4]和冬小麦[5]等植物进行研究,结果表明,不同浓度的锌、铜处理会对植物的 CA 活性和光合作用产生影响。杨霄等[6]对岩溶区和非岩溶区玉米的光合作用与锌含量和 CA 活性的关系进行研究,结果表明,土壤锌含量的增加能提高玉米叶片的锌含量和 CA 活性,并有利于其进行光合作用。在光合作用的原初反应(光能的吸收、传递,

转换为电能)过程中,有一部分光能损耗是以较长的荧光方式释放的,自然条件下的叶绿素荧光与光合作用有着十分密切的关系[7]。

贵州草海流域属于典型的岩溶环境,土壤具有高 pH、高钙等特点[8-9],使得土壤中的营养元素难以移动,造成营养元素缺乏,营养元素的平均值均为砂岩地区的 1/3[10-11],影响了植物的生长发育以及固碳增汇能力[12]。因此,要提高岩溶地区适生植物的固碳增汇能力,应充分利用其生境高钙的特点,增加土壤的营养含量,以获取植被较高的光合固碳能力。目前,有关 Zn、Cu 对农作物、1 年生植物的 CA 活性及光合作用影响的研究居多,且基本是室内控制条件下的水培试验,而有关 Ca 对木本植物的 CA 活性和光合荧光特性影响的研究却鲜有报道。因此,本试验从岩溶地区无机营养匮乏和高钙的角度出发,研究不同浓度锌、铜、钙溶液对贵州草海流域优势树种华山松(*Pinus armandii*)、滇杨(*Populus Yunnanensis*)、白栎(*White oak*)的 CA 活性和光合荧光特性的影响,揭示 Zn、Cu、Ca 与植

收稿日期: 2013-03-11

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAC02B02); 贵州大学研究生创新基金(校农研 2012004)

作者简介: 范怡雯(1987-),女,在读硕士生, E-mail: fanyiwen168@126.com

通讯作者: 喻理飞(1963-),男,博士,教授, E-mail: gdyulifei@163.com

物的 CA 活性和光合特征的关系,对丰富亚热带岩溶地区退化植被恢复与固碳增汇的理论以及技术研究与开发具有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验所用植被均来自贵州省威宁县草海流域花果山林业局苗圃,其地理位置为 26°51'N、104°13'E,海拔 2 615 m,属于亚热带季风气候,年平均气温 11.2℃,年降水量 739 mm。供试材料在贵州大学林学院苗圃进行培育,其地理位置为 26°34'N、106°42'E,海拔 1 100 m,年平均气温 15.8℃,年降水量 1 229 mm。

1.2 试验材料

供试材料为长势均一、无病害的华山松、滇杨和白栎等 1 年生苗木。采用草海流域原状土,将苗木移栽至花盆中,每盆 1 株,带回贵州大学林学院苗圃大棚进行培育。栽培基质的理化性质为:pH 8.07,有效 Zn 1.86 mg/kg,有效 Cu 1.65 mg/kg,交换性 Ca 2867.39 mg/kg。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 采用 3 因素 6 水平完全试验设计,Zn、Cu、Ca 分别采用分析纯的 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 和 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$,根据 Hoagland 不完全营养液配方设计不同金属浓度的处理,参考杨素丹^[13]和刘海琴等^[14]的研究,分别将浓度梯度设计为 50、100、200、400、600 mg/L,对照(0

mg/L)的营养元素按照 Hoagland 完全营养液配方配制,试验设 54 个处理,每个处理 3 次重复。

1.3.2 测定方法 CA 活性采用施倩倩等^[15]的 pH 计改良法测定,酶的活力用 WA-unit 表示($WA=t_0/t_1-1$);叶绿素含量采用文献[16]的乙醇-丙酮提取法测定;叶绿素荧光参数采用基础型调制叶绿素荧光仪 JUNIOR-PAM (德国 WALZ 公司)和数据采集软件 WinControl-3 测定。

1.3.3 统计分析方法 所有样品均重复测定 3 次,采用 Excel 和 SPSS17.0 软件对数据进行处理分析,试验结果为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 Zn、Cu、Ca对幼苗 CA 活性的影响

从图 1 可以看出,不同浓度的 Zn、Cu、Ca 溶液处理下,针叶树种华山松幼苗的 CA 活性均低于阔叶树种白栎和滇杨,且不同浓度的 Zn、Cu 溶液对华山松的 CA 活性基本无影响,而对白栎、滇杨的 CA 活性有明显影响,且白栎的 CA 活性高于滇杨。白栎、滇杨的 CA 活性均随着 Zn 浓度的增加而上升,随着 Cu 浓度的增加呈先升高后降低的趋势,其 CA 活性达到峰值时的 Cu 浓度分别为 400、200 mg/L;3 个树种幼苗的 CA 活性均随着 Ca 浓度的增加呈先升高后降低的趋势,华山松、滇杨、白栎的 CA 活性达到峰值时的 Ca 浓度分别为 50、100、100 mg/L。

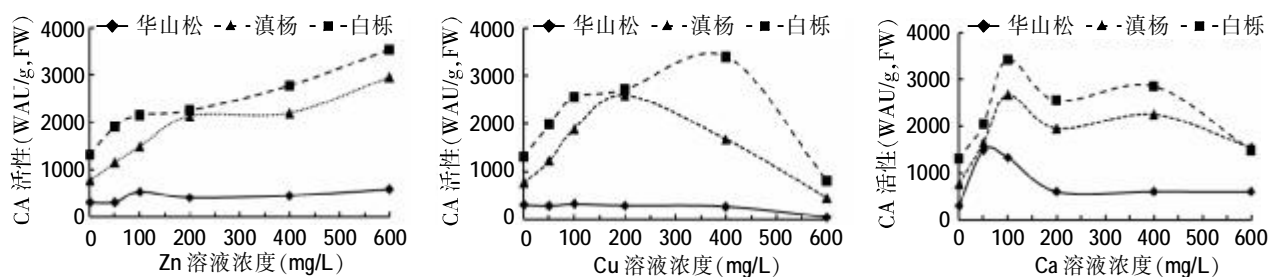


图 1 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 CA 活性的影响

2.2 Zn、Cu、Ca对幼苗叶绿素含量的影响

CA 主要存在于植物的叶绿体中^[17],叶绿素含量的变化也会影响植物的 CA 活性。

从图 2 可以看出,3 个树种幼苗的叶绿素含量均随着 Zn 浓度的增加而增加。其中,当 Zn 浓度为 0~200 mg/L 时,华山松幼苗的叶绿素含量增加较慢;之后随着 Zn 浓度的增加,华山松幼苗的叶绿素含量快速增加;当 Zn 浓度为 600 mg/L 时,华山松幼苗的叶绿素含量超过阔叶树种。3 个树种幼苗的叶绿素含量均随着 Cu 浓度的增加呈先增加后减少的趋势,华山松、滇杨、白栎的叶绿素含量达到峰值时的 Cu 浓度分别为 200、200、400 mg/L。3 个树种幼苗的叶绿素含量均随着 Ca 浓度的增加呈先增加后减少的趋势,华山松、滇杨、白栎的叶绿素含量达到峰值时的 Ca 浓度分别为 50、100、100 mg/L。

2.3 Zn、Cu、Ca对幼苗叶绿素荧光特性的影响

叶绿素荧光是研究植物光合生理与逆境胁迫关系的理想探针,通过对各种荧光参数进行分析可获得有关光能途径的信息,其中 Y(II)表示 PS II 的实际光合效率,ETR 表示电子传递速率,Fv/Fm 表示 PS II 原初光能转化效率,是 PS II 的最大光化学量子产量^[18],胁迫条件下这些参数值下降,表明叶片的光合结构受到损伤,光合电子传递效率降低,PS II 潜在活性中心受损,导致其实际光合效率较小,光合作用受到抑制;qP 表示光化学淬灭系数,反映 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额,在一定程度上反映了 PS II 反应中心的开放程度,qP 越大,PS II 的电子传递活性越大^[19];qN 表示非光化学淬灭系数,代表叶绿素荧光的非光化学淬灭,即 PS II 的天线系统将过量的光能热耗散掉的指标,当外界环境发生变化时,通过调节 qN 使得 qP 保持恒定,确保电子传递速率与 CO₂ 的固定速率一致,当 PS II 反应中心天线色素吸收了过量的光

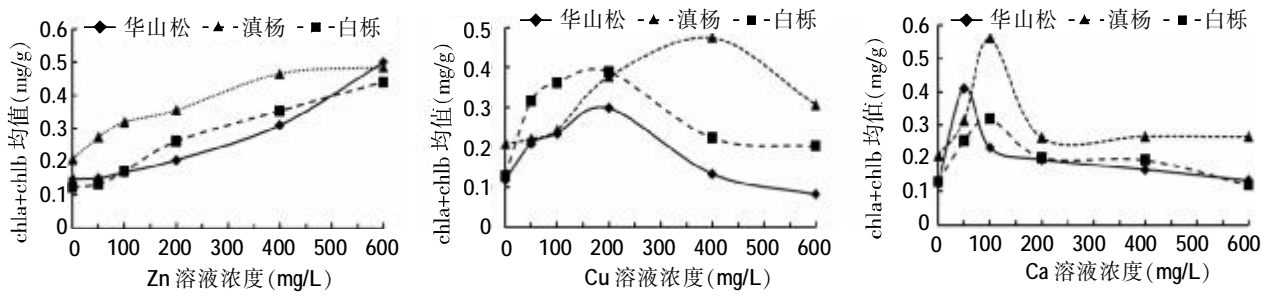


图 2 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗叶绿素含量的影响

能时,若不能及时地将其耗散掉,将会对光合机构造成失活或破坏,所以非光化学淬灭是一种自我保护机制,对光合机构起一定的保护作用。

从图 3~图 7 可以看出,3 个树种幼苗的 Y (II)、ETR、qP、qN、Fv/Fm 值均随着 Zn 浓度的增加而增大。当 Zn 浓度为 0~200 mg/L 时,针叶树华山松幼苗的 Y(II)、ETR、qP 值增长较快;当 Zn 浓度为 200~600 mg/L 时,华山松幼苗的 Y (II)、ETR、qP 值增长趋缓。当 Zn 浓度为 0~400 mg/L 时,华山松幼苗的 qN 值基本无变化;当 Zn

浓度为 400~600 mg/L 时,华山松幼苗的 qN 值快速增大。华山松幼苗的 Fv/Fm 值的增长比较平缓。当 Zn 浓度为 400~600 mg/L 时,阔叶树白栎和滇杨的 qN 和 qP 值增加幅度较大。白栎和滇杨的 Y (II)、ETR、Fv/Fm 值的增加比较平缓。

3 个树种幼苗的 Y (II)、ETR、qP、Fv/Fm 值均随着 Cu 浓度的增加呈先增大后减小的趋势,华山松的 Y (II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Cu 浓度均为 200 mg/L,滇杨的 Y (II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Cu 浓度均

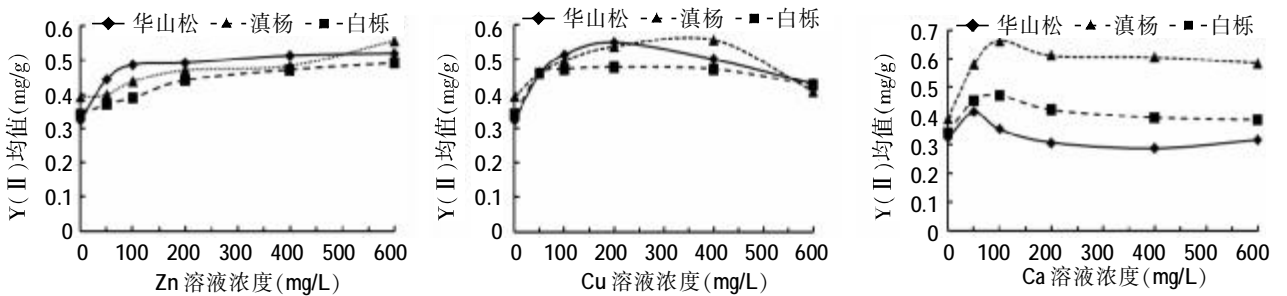


图 3 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 Y(II)的影响

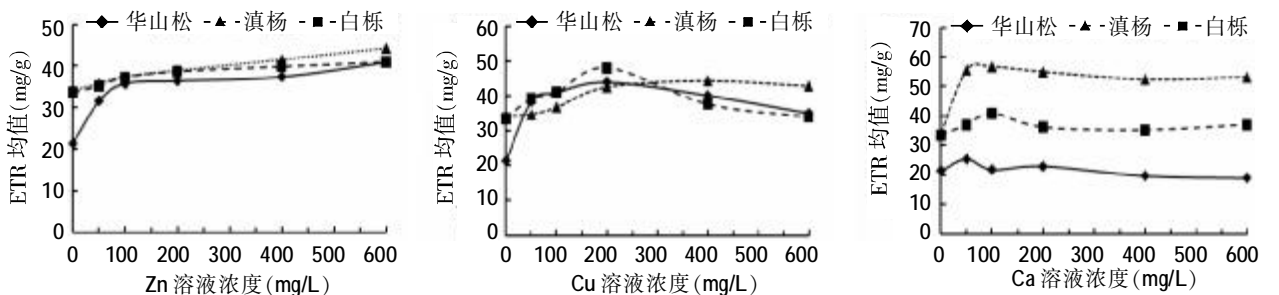


图 4 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 ETR 的影响

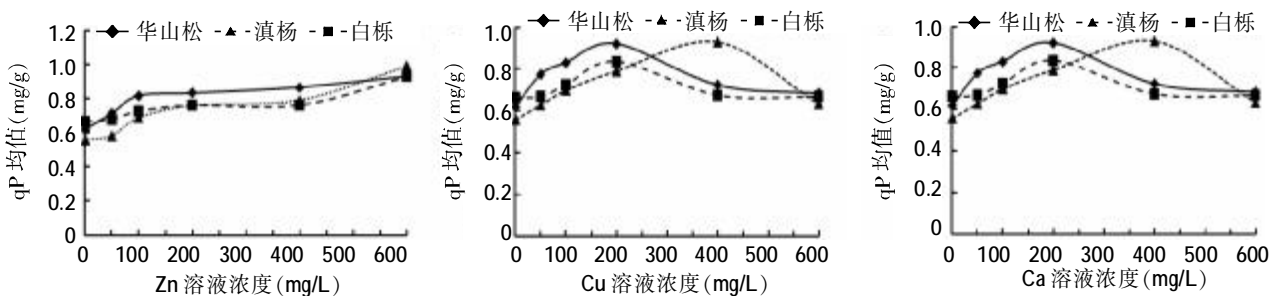


图 5 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 qP 值的影响

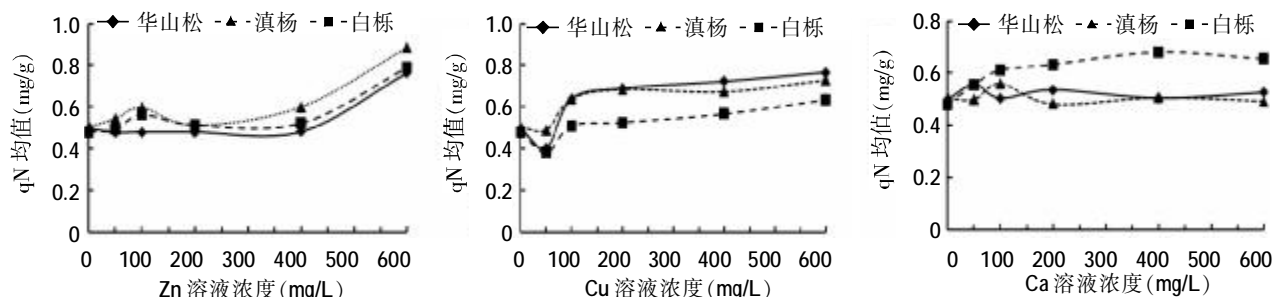


图6 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 qN 值的影响

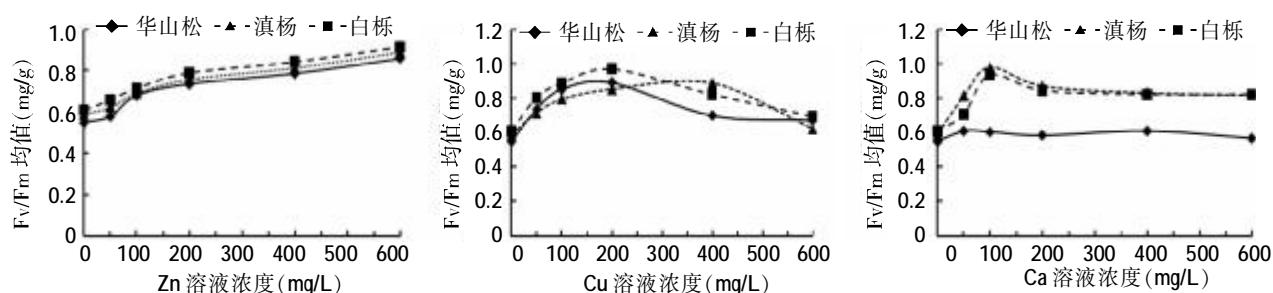


图7 不同浓度 Zn、Cu、Ca 溶液对植物幼苗 Fv/Fm 值的影响

为 200 mg/L, 白栎的 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Cu 浓度均为 400 mg/L。3 个树种幼苗的 qN 值均随着 Cu 浓度的增加呈先减小后增大的趋势, 华山松、滇杨、白栎的 qN 值出现峰值(低峰)时的 Cu 浓度均为 50 mg/L。

3 个树种幼苗的 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值均随着 Ca 浓度的增加呈先增大后减小的趋势, 华山松的 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Ca 浓度均为 50 mg/L, 滇杨的 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Ca 浓度均为 100 mg/L, 白栎的 Y(II)、ETR、qP、Fv/Fm 值达到峰值时的 Ca 浓度均为 100 mg/L。3 个树种的 qN 值随着 Ca 浓度的增加均没有太大变化, 呈上下浮动的状态。

3 结论与讨论

Zn 对阔叶树种滇杨和白栎幼苗的 CA 活性有显著影响, 且影响趋势相同, 有良好的 CA 活性表达, 但对针叶树种华山松幼苗的 CA 活性无显著影响。适量施用 Zn 能够促进 3 个树种叶片中叶绿素的合成, 随着 Zn 浓度的增加, 叶绿素的荧光参数呈上升趋势, 说明其光合结构未受损伤, PS II 反映中心得到较好的激发, 表现出较好的光合特性。这与玉米^[20]、油菜^[21]等农作物、苹果^[22]、杨树^[13]等阔叶树种有相似的反应。但当 Zn 浓度为 400 mg/L 时, 杨树^[13]会出现叶片黄化、枯落等现象; 而本研究表明, CA 活性、叶绿素含量及荧光参数的变化峰值对应的 Zn 浓度均大于 600 mg/L, 其最适范围还需进行深入研究。

Cu 对华山松幼苗的 CA 活性几乎无影响, 高浓度下(大于 400 mg/L)甚至失活; 对滇杨和白栎幼苗的 CA 活性具有低促高抑的作用, 其作用峰值分别为 200、400 mg/L。3 个树种的非光化学淬灭系数 qN 均与 Cu 浓度呈极显著正相关, 这与李红等^[23]的研究结果相似, 说明 Cu 浓度的增加可激发 PS II 天线系统将光能热耗散掉, 通过调节 qN 使

得 qP 保持恒定, 确保电子传递速率与 CO₂ 的固定速率一致, 对光合机构起一定的保护作用。Cu 对华山松、滇杨、白栎 3 个树种的光合作用及荧光动力学参数影响的最适浓度范围分别是 0~200、0~200、0~400 mg/L, Cu 过量则明显降低植物叶片的色素含量, 破坏内囊体膜结构, 修饰加工色素分子和降低色素合成酶的活性, 使 PS II 的电子传递受阻, 降低植物的光合作用效率, 抑制植物的生长。

Ca 对阔叶树种滇杨、白栎和针叶树种华山松幼苗的 CA 活性均具有低促高抑的作用, 但对阔叶树种的作用水平高于针叶树种, 对滇杨、白栎、华山松幼苗的作用峰值分别为 50、100、100 mg/L, 反映出 3 个树种对 Ca 具有一定的适应能力, 且阔叶树种对 Ca 的适应能力强于针叶树种。该结论可说明贵州草海周边喀斯特地貌条件下滇杨、白栎、华山松能成为优势种的原因, 也可印证在喀斯特区阔叶树种多、针叶树种很少的现象。有研究表明, 微藻及其 CA 对石灰岩土壤系统中的 Ca 元素迁移有较强的驱动作用^[24], 植物叶片中的 CA 是否对植物体内的 Ca²⁺也有驱动作用, 以使植物能更好的适应高 Ca 环境, 还需进行深入研究。

参考文献:

- [1] Badger M R, Price G D. The role of carbonic anhydrase in photosynthesis [J]. *Annual Review of Plant*, 1994,45:369-392.
- [2] 吴德勇. 铜、锌、铅对大豆幼苗生长和子叶光合特性的影响[D]. 镇江: 江苏大学, 2007.
- [3] 董文轩, 沈隽, 孟繁静. 锌铜处理对苹果属植物叶内碳酸酐酶活性的影响[J]. *果树科学*, 1995,12(1):10-14.
- [4] 吴沿友, 张红萍, 吴德勇, 等. 重金属对油菜? 诸葛菜的碳酸酐酶抑制作用[J]. *安徽农业科学*, 2006,34(24):6430-6431.
- [5] 韩金玲, 李雁鸣, 马春英. 锌对冬小麦叶片碳酸酐酶活性的影响[J].

