

低温弱光对黄瓜幼苗 Rubisco 与 Rubisco 活化酶的影响*

姜振升¹ 孙晓琦¹ 艾希珍^{1**} 王美玲¹ 毕焕改¹ 王洪涛²

(¹ 山东农业大学园艺科学与工程学院作物生物学国家重点实验室/园艺作物生物学农业部重点开放实验室, 山东泰安 271018; ² 山东省枣庄市农业示范园, 山东枣庄 277300)

摘要 以‘津优3号’黄瓜幼苗为试材,研究弱光($100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下适温(WL:25℃/18℃)、亚适温(ST+WL:18℃/12℃)和低温(LT+WL:10℃/5℃)对黄瓜幼苗光合速率(P_n)、核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(Rubisco)、Rubisco活化酶(RCA)活性及其基因表达量的影响.结果表明:与对照(25℃/18℃, $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)相比,WL、ST+WL和LT+WL处理的单株叶面积和干物质量均明显减小.处理初期, P_n 、Rubisco活性及其大亚基基因(*rbcL*)、小亚基基因(*rbcS*)表达、RCA活性与基因(*CsRCA*)表达量大幅度降低,5~7 d后,WL处理趋于平稳,ST+WL处理缓慢回升,而LT+WL处理持续下降,表明黄瓜光合机构对适温弱光和亚适温弱光环境有逐步适应机制. Rubisco和RCA活性及其基因表达对低温弱光的响应与 P_n 基本一致,表明低温弱光下RCA和Rubisco活性及其基因表达量下降是黄瓜幼苗 P_n 降低的重要原因.

关键词 核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(Rubisco) Rubisco活化酶(RCA) 基因表达 低温弱光 亚适温弱光 黄瓜

文章编号 1001-9332(2010)08-2045-06 **中图分类号** S642.2 **文献标识码** A

Responses of Rubisco and Rubisco activase in cucumber seedlings to low temperature and weak light. JIANG Zhen-sheng¹, SUN Xiao-qi¹, AI Xi-zhen¹, WANG Mei-ling¹, BI Huan-gai¹, WANG Hong-tao² (¹ State Key Laboratory of Crop Biology/Ministry of Agriculture Key Laboratory of Horticultural Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China; ² Zaozhuang Agricultural Demonstration Garden, Zaozhuang 277300, Shandong, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2010, 21(8): 2045–2050.

Abstract: Using ‘Jinyou 3’ cucumber seedlings as test materials, this paper studied their photosynthetic rate (P_n), Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) and Rubisco activase (RCA) activities, and gene expression of Rubisco and RCA under optimal temperature and weak light (WL: 25℃/18℃, $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), suboptimal temperature and weak light (ST+WL: 18℃/12℃, $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), and low temperature and weak light (LT+WL: 10℃/5℃, $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Comparing with the control (25℃/18℃, $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), treatments WL, ST+WL, and LT+WL all led to a remarkable decrease in leaf area and dry matter mass. At initial stage, the P_n , Rubisco activity, *rbcL* and *rbcS* expression, RCA activity, and *CsRCA* expression in the three treatments declined by a big margin; 5–7 days later, these parameters tended to be less changed in treatment WL, ascended slowly in treatment ST+WL, and decreased continuously in treatment LT+WL. These results suggested that the photosynthetic apparatus of test cucumber seedlings could gradually adapt to weak light or suboptimal temperature and weak light. The Rubisco and RCA activities and the gene expression of Rubisco and RCA showed the similar responses to low temperature and weak light as the P_n , suggesting that the decline in Rubi-

*教育部博士点基金项目(20070434002)、国家自然科学基金项目(30972032)、国家重点基础研究发展计划项目(2009CB119000)、国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD07B04-9)和现代农业产业技术体系建设专项资金项目资助.

** 通讯作者. E-mail: axz@sdau.edu.cn

2009-12-28 收稿, 2010-06-20 接受.

sco and RCA activities and gene expression in cucumber seedlings under low temperature and weak light could be the important reason leading to the decrease of P_n .

Key words: Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco); Rubisco activase (RCA); gene expression; low temperature and weak light; suboptimal temperature and weak light; cucumber.

在北方地区日光温室中,弱光、亚适温弱光或低温弱光逆境经常出现,是限制北方日光温室黄瓜 (*Cucumis sativus*) 生产的重要因素,它往往引起植株电子传递受阻,碳同化酶活性降低,光合能力下降^[1-3]. 核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶 (Rubisco) 是光合碳同化的双功能酶,它催化核酮糖-1,5-二磷酸 (RuBP) 的羧化和加氧反应,并调节二者之间的关系. Rubisco 在植物叶片内的含量很高,约占可溶性蛋白质的 50% 以上,但其催化效率很低. 因为加氧反应除了消耗能量,还损失了羧化反应中固定的 25% 的有机碳;同时各种磷酸糖类能抑制 Rubisco 的活性,且活化态 Rubisco 易于脱氨甲酰化而失活,这些因素使 Rubisco 成为限制作物光合速率的重要因素^[4]. 因此,如何提高其光合活力成为许多科研工作者关注的热点. 多年来人们对 Rubisco 含量、活性、结构、功能及调节等方面进行了大量研究,希望通过基因工程手段对 Rubisco 进行改造,以提高植物光合生产力^[5-7],但至今未取得良好的效果^[5]. 后来研究发现,影响植物光合速率的限制因子不是 Rubisco 的总量,而是活化的 Rubisco 量^[8]. 植株体内 Rubisco 必须经过 Rubisco 活化酶 (RCA) 的活化才能表现出其羧化/加氧活性,即 Rubisco 在植物体内的活性取决于 RCA 对它的活化. Martinez 等^[9]发现,玉米低产品系中 RCA 含量很低,若人为提高 RCA 水平,则 Rubisco 和 P_n 都随之上升,产量增加. 翁晓燕等^[10]根据水稻光合日变化过程中 Rubisco 活性的变化规律,提出光对光合速率影响的本质是通过 RCA 调节 Rubisco 的初始活力. 关于 RCA 对温度变化的响应,目前已经明确高温胁迫下 Rubisco 活性降低是引起光合活力下降的首要因素,而 Rubisco 活性降低主要归因于 RCA 的热不稳定性^[11-12]. 但有关 RCA 对低温弱光胁迫响应的研究,至今未见报道. 为此,本试验人工模拟适温弱光、亚适温弱光和低温弱光条件,研究黄瓜 Rubisco、RCA 活性及其基因表达对不同温光环境的响应,分析其与光合速率的关系,为设施黄瓜温光管理和高产栽培提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料与试验设计

试验于 2008 年在山东农业大学园艺试验站进行. 供试黄瓜品种为‘津优 3 号’. 于 9 月 2 日播种,在日光温室内用 8 cm×8 cm 营养钵土壤育苗. 育苗环境为:光量子通量密度 (PFD) 日均值约 540 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,昼/夜温度均值约 27.5 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$. 10 月 3 日选择生长一致的幼苗 (三叶一心) 置人工气候室内预处理 7 d,预处理条件为:昼/夜温度 25 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$,PFD 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光周期 11 h/13 h. 然后将幼苗分成 4 组进行处理,处理条件分别为:适温弱光 (WL):昼/夜温度 25 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$,PFD 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;亚适温弱光 (ST+WL):昼/夜温度 18 $^{\circ}\text{C}$ /12 $^{\circ}\text{C}$,PFD 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;低温弱光 (LT+WL):昼/夜温度 10 $^{\circ}\text{C}$ /5 $^{\circ}\text{C}$,PFD 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;对照 (CK):昼/夜温度 25 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$,PFD 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. 处理前后分别测定黄瓜幼苗的叶面积与干物质量;分别于处理 1、3、5、7 和 11 d 时测定 P_n 、Rubisco 和 RCA 活性及其基因表达. 每处理重复 5 次,取平均值.

1.2 测定项目与方法

1.2.1 生长量 用直尺测定叶长,按照龚建华等^[13]的方法计算叶面积;称量法测定干物质量.

1.2.2 光合速率 用英国 PP-Systems 公司生产的 Ciras-2 型光合仪测定 PFD 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,CO₂ 浓度 350~360 $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$,叶温 (25±1) $^{\circ}\text{C}$ 下黄瓜幼苗最佳功能叶片 (上数第 2 片展开叶) 光合速率 (P_n). PFD、CO₂ 浓度分别由仪器的可调光源、内置式 CO₂ 供气系统调控,叶温由温度监控装置控制.

1.2.3 Rubisco 和 RCA 活性 参照 Jiang 等^[14]的方法,作如下修改:

1) 酶液制备:剪下已测定 P_n 的叶片,立即置于液氮中. 称取 0.1 g 叶片置于研钵中,加 1.9 ml 预冷的提取液磨成匀浆. 提取液组成:10 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ BTP (双-Tris-丙烷) (pH 7.0)、1 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 乙二醇四乙酸钠 (EDTA- Na_2)、5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 氯化镁 (MgCl_2)、0.4 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 三磷酸腺苷 (ATP)、15 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 二硫苏

糖醇(DTT)、1 mmol · L⁻¹ 苯甲基磺酰氟(PMSF)、2 mmol · L⁻¹ 苄咪(Benzamidine)、0.01 mmol · L⁻¹ 亮肽素(Leupeptin)、0.1% β-巯基乙醇。匀浆经 12000×g 冷冻离心 10 min,上清液用于 Rubisco 和 RCA 活性测定。

2) Rubisco 初始羧化活性测定:将 50 μl 酶提取液加入到 450 μl 预保温 30 ℃ 的反应液中,反应液组成为:50 mmol · L⁻¹ HEPES-KOH 缓冲液(pH 8.0)、1 mmol · L⁻¹ EDTA-Na₂、20 mmol · L⁻¹ MgCl₂、2.5 mmol · L⁻¹ DTT、0.6 mmol · L⁻¹ 核酮糖-1,5-二磷酸(RuBP)和 10 mmol · L⁻¹ NaH¹⁴CO₃(10 μCi · ml)。30 s 后加 2 mol · L⁻¹ HCl 100 μl 终止反应,15000×g 离心 5 min,取上清液 400 μl 加到测样瓶中,65 ℃ 烘干,再经 400 μl 水充分溶解后加入闪烁液 10 ml,用 XH-6925 型液体闪烁计数器测定放射强度。根据放射强度计算 Rubisco 初始活性。

3) Rubisco 总羧化活性测定:将 50 μl 酶提取液加入到 75 μl 预保温 30 ℃ 的活化反应液中,活化反应液组成为:50 mmol · L⁻¹ HEPES-KOH 缓冲液(pH 8.0)、0.67 mmol · L⁻¹ EDTA-Na₂、33 mmol · L⁻¹ MgCl₂、10 mmol · L⁻¹ NaHCO₃。10 min 后加入 375 μl 初始活性反应液。30 s 后用 2 mol · L⁻¹ HCl 100 μl 终止反应。按测定 Rubisco 初始羧化活性的方法测定放射性强度并计算 Rubisco 总活性。

4) RCA 活性测定:将 50 μl 酶提取液和经 0.4 mmol · L⁻¹ RuBP 钝化的 Rubisco 50 μg 加入 420 μl 下述反应液中:50 mmol · L⁻¹ HEPES-KOH 缓冲液(pH 8.0)、1 mmol · L⁻¹ EDTA-Na₂、20 mmol · L⁻¹ MgCl₂、2.5 mmol · L⁻¹ DTT、5 mmol · L⁻¹ ATP、10 mmol · L⁻¹ NaH¹⁴CO₃(10 μCi · ml⁻¹)、5 mmol · L⁻¹ 磷酸肌酸和 5 U 的磷酸肌酸激酶。10 min 后加 12 mmol · L⁻¹ RuBP 25 μl (终浓度 0.6 mmol · L⁻¹)、30 s 后用 2 mol · L⁻¹ HCl 100 μl 终止反应。按测定 Rubisco 初始羧化活力的方法测定放射强度。RCA 活力用加与未加 RuBP 钝化的 Rubisco 活性的差值表示,即 RCA 活性=加 RuBP 钝化的 Rubisco 活性-未加 RuBP 钝化的 Rubisco 活性。

1.2.4 Rubisco 和 RCA 基因表达 将黄瓜叶片于液氮中研磨成粉末,称取 0.1 g,加 1 ml pBIOZL 提取液(BioFlux 公司产品),涡旋震荡混匀,按试剂说明书提取 RNA。用实时荧光定量 PCR 法,根据本实验室克隆的黄瓜 Rubisco 大亚基基因(*rbcL*)、小亚基基因(*rbcS*)和 RCA(*CsRCA*)序列及内参 actin,分别设计引物 RL1、RL2(来自 *rbcL* 序列,EF208123)、RS1、

RS2(来自 *rbcS* 序列,EF208124)、RCA1、RCA2(来自 *CsRCA* 序列,FJ980456)、aF、aR(来自 actin),由宝生物工程(大连)有限公司合成。用 TaKaRa 公司的 SYBR(r) PrimeScript(tm) RT-PCR Kit II 试剂盒,Bio-Rad 公司的 iCycler iQ5 实时荧光定量 PCR 仪检测 *rbcL*、*rbcS* 和 *CsRCA* 的 mRNA 表达,检测方法参照试剂盒说明书。引物序列:RL1: 5'-GCTATG-GAATCGAGCCTGTTG-3',RL2: 5'-CCAAATACAT-TACCCACAATGGAAG-3',RS1: 5'-CGCATTTCAT-CAGGGTTATTGG-3',RS2: 5'-AAGAGTAGAACTT-GGGGCTTGTAGG-3',RCA1: 5'-AAAGTGGGCTG-TAGGCGTTG-3',RCA2: 5'-CTTTTCTATTGT-CATCTTCGGTTGG-3',aF: 5'-CCACGAAACTACT-TACAACCTCCATC-3',aR: 5'-GGGCTGTGATTTTCCT-TGCTC-3'。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 和 SigmaPlot 软件处理数据和作图,用 DPS 软件对数据进行单因素方差分析,并运用 Duncan 检验法对显著性差异($P<0.05$)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 低温弱光胁迫对黄瓜幼苗叶面积和干物质量的影响

由表 1 可以看出,CK 黄瓜幼苗的单株叶面积日增量为 4.05 cm²,逆境下处理 11 d 后,WL 处理的单株叶面积日增量降至 2.24 cm²,比 CK 减少了 45%;ST+WL 和 LT+WL 处理的叶面积日增量分别为 2.34 和 1.12 cm²,分别比 CK 降低了 43% 和 72%。各处理干物质量的变化与叶面积相似,WL、ST+WL 和 LT+WL 处理的日增量分别比 CK 降低了 41%、36% 和 70%。

表 1 不同处理黄瓜幼苗叶面积与干物质量
Tab.1 Leaf area and dry matter of cucumber seedlings under different treatments (mean±SD)

处 理 Treatment	单株叶面积日增量 Increase of leaf area per day (cm ²)	单株干物质日增量 Increase of dry matter per day (g)
CK	4.05±0.02a	0.073±0.008a
WL	2.24±0.04b	0.043±0.002b
ST+WL	2.34±0.03b	0.047±0.004b
LT+WL	1.12±0.01c	0.022±0.005c

CK:对照 Control;WL:适温弱光 Optimal temperature and week light;ST+WL:亚适温弱光 Suboptimal temperature and week light;LT+WL:低温弱光 Low temperature and week light. 同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$) Different letters in the same column meant significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

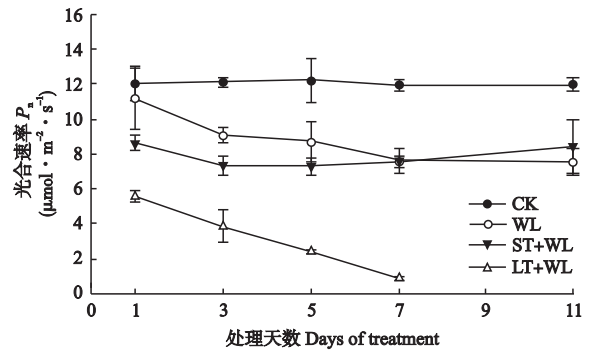


图1 不同处理黄瓜幼苗叶片光合速率

Fig.1 Photosynthetic rate (P_n) of cucumber seedlings leaves under different treatments.

CK:对照 Control;WL:适温弱光 Optimal temperature and week light;ST+WL:亚适温弱光 Suboptimal temperature and week light;LT+WL:低温弱光 Low temperature and week light. 下同 The same below.

2.2 低温弱光胁迫对黄瓜幼苗叶片光合速率的影响

由图1可知,胁迫初期 WL、ST+WL 和 LT+WL 处理的 P_n 均显著降低,3 d 后 WL 的降低幅度逐渐减小,而 ST+WL 略有回升. LT+WL 一直呈直线下降,7 d 时 P_n 接近 0,之后叶片永久萎蔫.

2.3 低温弱光胁迫对黄瓜幼苗叶片 Rubisco 活性及其基因表达的影响

2.3.1 对 Rubisco 羧化活性的影响 由图2可知, WL、ST+WL 和 LT+WL 处理均使黄瓜幼苗叶片的 Rubisco 初始活性显著降低,开始时以 LT+WL 的降低幅度最大,ST+WL 其次,WL 的降低幅度最小;5 d 后 LT+WL 处理的 Rubisco 初始活性接近 0,WL 趋于平稳,而 ST+WL 略有回升. 处理结束时(11 d),WL 和 ST+WL 处理的 Rubisco 初始活性差异不显著.

逆境胁迫条件下,各处理的 Rubisco 总活性也明显降低,但开始时 WL、ST+WL 和 LT+WL 处理间差异不显著.1 d 后 LT+WL 处理的 Rubisco 总活性快速下降,5 d 时降至 CK 的 16%,之后再未测出;而 WL 和 ST+WL 处理的 Rubisco 总活性先明显回升,3 d 后缓慢下降. 胁迫时间超过 7 d 后,ST+WL 处理的 Rubisco 总活性趋于上升,而 WL 处理明显下降,最终 WL 和 ST+WL 处理的 Rubisco 总活性分别比 CK 降低了 68% 和 52%.

2.3.2 对 *rbcl* 和 *rbcs* mRNA 表达的影响 逆境胁迫下,WL、ST+WL 和 LT+WL 处理的 *rbcl* mRNA 相对表达量大幅度下降,处理 1 d 时即分别比 CK 降低了 61%、63% 和 65%,之后持续降低. 处理 5 d 时,LT+

WL 处理的 *rbcl* 相对表达量接近 0,之后未检出;WL 和 ST+WL 处理也降至最低值,分别只有 CK 的 10% 和 13%,但随着处理时间的延长,两者有缓慢上升的趋势,处理结束时(11 d),WL 和 ST+WL 处理的 *rbcl* 相对表达量分别比处理前降低了 83% 和 79% (图3).

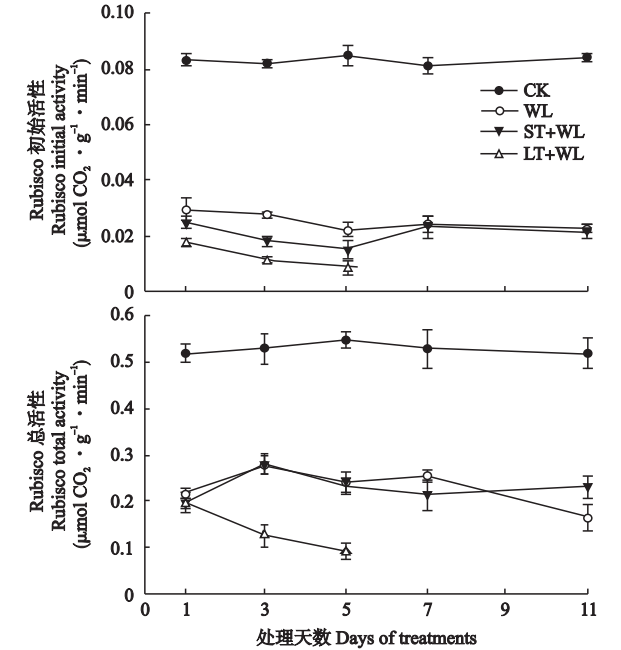


图2 不同处理黄瓜幼苗叶片 Rubisco 初始活性和总活性

Fig.2 Rubisco initial activity and total activity of cucumber seedlings leaves under different treatments.

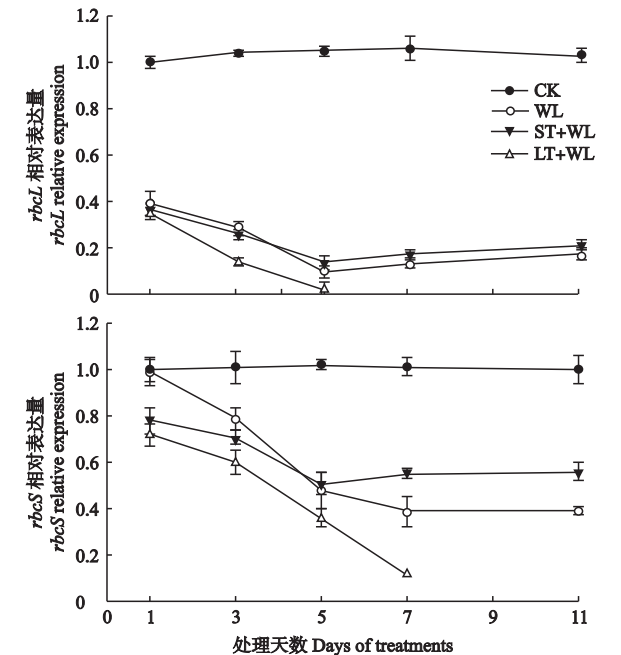


图3 不同处理黄瓜幼苗叶片 *rbcl*、*rbcs* mRNA 相对表达量

Fig.3 Relative expression of *rbcl* and *rbcs* in cucumber seedlings leaves under different treatments.

WL、ST+WL 和 LT+WL 处理对 *rbcS* 相对表达量的影响明显小于 *rbcL*。处理 1 d 时, WL 处理的 *rbcS* 表达量与 CK 差异不显著; ST+WL 和 LT+WL 处理分别比 CK 降低了 22% 和 28%。之后各处理的 *rbcS* 相对表达量均随胁迫时间的延长而降低, 5 ~ 7 d 后, WL 处理的 *rbcS* 相对表达量趋于平稳, ST+WL 处理缓慢升高, 而 LT+WL 处理接近 0 (图 3)。

2.4 低温弱光胁迫对黄瓜幼苗叶片 RCA 活性及其基因表达的影响

2.4.1 对 RCA 活性的影响 胁迫初期, 各处理黄瓜幼苗的 RCA 活性均逐渐降低 (图 4), 降低幅度以 LT+WL 处理最大, WL 处理最小。3 d 后 LT+WL 的 RCA 活性继续下降, 而 WL 和 ST+WL 缓慢回升。胁迫 5 d 时, WL 和 ST+WL 处理的 RCA 活性分别比 CK 降低了 33% 和 58%, 而 LT+WL 的 RCA 已无活性; 胁迫 7 d 后, WL 处理的 RCA 活性迅速下降, 而 ST+WL 仍呈上升趋势。胁迫结束时, ST+WL 处理的 RCA 活性明显高于 WL 处理。

2.4.2 对 *CsRCA* mRNA 表达的影响 从图 4 可以看出, 处理期间 *CsRCA* 的表达量降低幅度小于 *rbcL*, 但大于 *rbcS*, 开始时随处理时间的延长而降低, 处理 5 d 时, WL、ST+WL 和 LT+WL 处理的 *CsRCA* 相对表达量分别比胁迫前降低了 68%、77% 和 93%。之后 WL 处理趋于平稳, 而 ST+WL 处理缓慢升高, LT+WL 处理的表达量趋于 0。

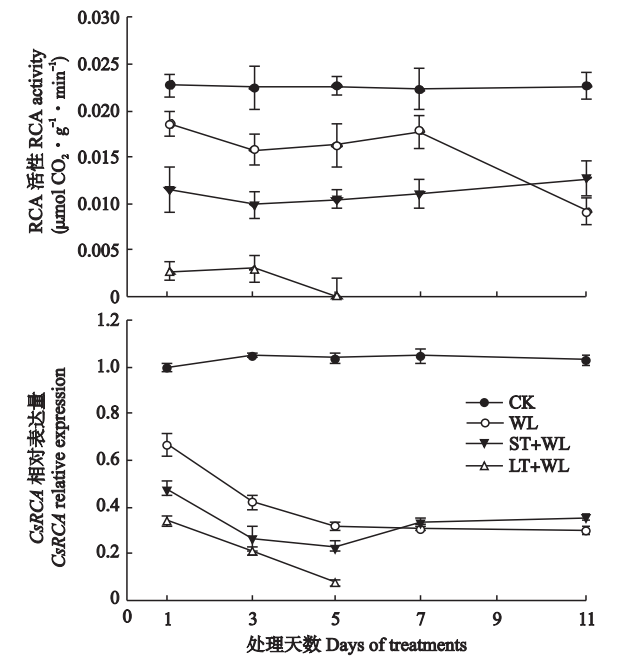


图 4 不同处理黄瓜幼苗叶片 RCA 活性和 *CsRCA* mRNA 相对表达量
Fig. 4 RCA activity and relative expression of *CsRCA* in cucumber seedlings leaves under different treatments.

3 讨 论

胁迫初期, 以低温弱光处理黄瓜幼苗的 P_n 降低幅度最大, 亚适温弱光其次, 适温弱光降低幅度最小, 说明短时亚适温和低温对黄瓜叶片光合功能的影响比短时弱光大。当胁迫时间超过 3 d 时, 适温弱光处理的 P_n 仍呈下降趋势, 而亚适温弱光处理趋于回升, 表明较长时间的弱光单因子胁迫比亚适温弱光同时存在的影响大, 即亚适温对弱光有一定的补偿效应。这是因为较长时间的适温弱光处理使黄瓜幼苗吸收的光能大幅度减少, 而通过呼吸消耗的能量还较大, 因此净光合速率持续下降; 弱光下给予较低的温度时, 虽然叶片吸收的光能减少, 电子传递速率降低, 但植株对光能的消耗也随之减少, 导致 P_n 的下降幅度会逐渐减小。

研究发现, 较长时间的弱光和亚适温弱光胁迫可使黄瓜幼苗叶片的光补偿点降低^[1], 说明弱光既是胁迫因子, 又是诱导因子, 弱光下黄瓜叶片会通过自身调节, 提高光能利用效率, 以减小光合功能的降低程度。本试验中, 胁迫时间延续至 5 ~ 7 d 时, WL 和 ST+WL 处理的 P_n 降低幅度趋于减小或略有回升。Rubisco 和 RCA 活性及 *rbcL*、*rbcS*、*CsRCA* 表达量的变化与 P_n 基本相似, 说明适温弱光和亚适温弱光下黄瓜光合机构的自我调节机制可能与 RCA 对 Rubisco 的活化机制有关。低温弱光下, 黄瓜幼苗的 P_n 、Rubisco 和 RCA 活性及 *rbcL*、*rbcS*、*CsRCA* 表达量持续降低, 7 d 后未能测出。这说明本试验设定的低温弱光强度对黄瓜光合作用的影响超出了其光合机构的适应能力, Rubisco 失活, 从而导致光合功能持续下降, 直至叶片萎蔫, 幼苗死亡。

Rubisco 作为光合碳同化的关键酶, 其活性高低直接影响光合速率^[15]。多数研究表明, 影响植物光合作用的各种生态因子都通过 Rubisco 而起作用^[16-17], 而 Rubisco 必须经 RCA 活化后才具有催化活力^[18]。RCA 是一种核编码的叶绿体蛋白, 在 ATP 参与下, 使 Rubisco 迅速与生理浓度的 CO_2 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 Mg^{2+} 结合形成 ECM ($\text{Rubisco} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{Mg}^{2+}$) 三元复合物, 从而达到最大活化程度^[19]。RCA 作为 Rubisco 的分子伴侣, 可促进和稳定 Rubisco 催化活性, 在植物光合作用对温度的响应中发挥重要作用^[20]。翁晓燕等^[10]研究指出, Rubisco 的初始活力受环境条件的影响主要通过 RCA 来调节。本试验结果表明, RCA、Rubisco 活性及其基因表达对适温弱光、亚适温弱光及低温弱光的响应与 P_n 具有很强的

一致性. 当黄瓜幼苗受到低温弱光胁迫时, 植物根系的吸收功能减弱, 造成叶片失水, 水势降低, 使叶绿体基质的 pH 发生变化; 同时光合磷酸化受阻, ATP 供应不足, 进而影响 RCA 的正常功能^[21], Rubisco 活化及其基因表达受到抑制. 可见, 无论是弱光单因子胁迫, 还是亚适温或低温与弱光交叉胁迫, RCA、Rubisco 活性及其基因表达水平下降是引起黄瓜幼苗光合功能降低的重要原因.

参考文献

- [1] Liang W-J (梁文娟), Wang M-L (王美玲), Ai X-Z (艾希珍), *et al.* Photosynthesis adaptation of cucumber seedlings to suboptimal temperature and low light intensity stress. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2008, **24** (8): 240–244 (in Chinese)
- [2] Allen DJ, Ort DR. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 2001, **6**: 36–42
- [3] Liu W (刘伟), Ai X-Z (艾希珍), Liang W-J (梁文娟), *et al.* Effect of salicylic acid on photosynthesis and antioxidant enzymes activity of cucumber seedlings under low temperature and light intensity. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, **20** (2): 441–445 (in Chinese)
- [4] Zhang G (张国), Li B (李滨), Zou Q (邹琦). Cloning and expression of Rubisco activase gene in wheat. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 2005, **22**(3): 313–319 (in Chinese)
- [5] Mann CC. Future food; Bioengineering: Genetic engineers aim to soup up crop photosynthesis. *Science*, 1999, **283**: 314–316
- [6] Spreitzer RJ, Salvucci ME. Rubisco: Structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, **53**: 449–475
- [7] Parry MAJ, Andralojc PJ, Mitchell RAC, *et al.* Manipulation of Rubisco: The amount, activity, function and regulation. *Journal of Experimental Botany*, 2003, **54**: 1321–1333
- [8] Xu D-Q (许大全). Photosynthesis Efficiency. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2002
- [9] Martínez-Barajas E, Molina-Galán J, de Jiménez ES. Regulation of Rubisco activity during grain-fill in maize: Possible role of Rubisco activase. *The Journal of Agricultural Science*, 1997, **128**: 155–161
- [10] Weng X-Y (翁晓燕), Lu Q (陆庆), Jiang D-A (蒋德安). Rubisco activase and its regulation on diurnal changes of photosynthetic rate and the activity of Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). *Chinese Journal of Rice Science* (中国水稻科学), 2001, **15**(1): 35–40 (in Chinese)
- [11] Salvucci ME, Crafts-Brandner SJ. Relationship between the heat tolerance of photosynthesis and the thermal stability of Rubisco activase in plants from contrasting thermal environments. *Plant Physiology*, 2004, **134**: 1460–1470
- [12] Kurek I, Chang TK, Bertain SM, *et al.* Enhanced thermostability of *Arabidopsis* Rubisco activase improves photosynthesis and growth rates under moderate heat stress. *The Plant Cell*, 2007, **19**: 3230–3241
- [13] Gong J-H (龚建华), Xiang J (向军). Studies on a quick intact measurement to cucumber colony's leaf area. *China Vegetables* (中国蔬菜), 2001 (4): 7–9 (in Chinese)
- [14] Jiang D-A (蒋德安), Lu Q (陆庆), Weng X-Y (翁晓燕), *et al.* Regulation of Rubisco carboxylation activity and photosynthetic rate by Rubisco activase during leaf senescence in rice. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)* (浙江大学学报·农业与生命科学版), 2000, **26**(2): 119–124 (in Chinese)
- [15] Li W-F (李卫芳), Wang X-H (王秀海), Wang Z (王忠). Correlation between Rubisco, Rubisco activase and diurnal photosynthesis rate changes of flag leaf in wheat. *Journal of Anhui Agricultural University* (安徽农业大学学报), 2006, **33**(1): 30–34 (in Chinese)
- [16] Weng X-Y (翁晓燕), Jiang D-A (蒋德安). Regulation of Rubisco activity and diurnal changes of photosynthetic rate in rice by ecology factors. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)* (浙江大学学报·农业与生命科学版), 2002, **28**(4): 387–391 (in Chinese)
- [17] Brüggemann W, van der Kooij TAW, van Hasselt PR. Long-term chilling of young tomato plants under low light and subsequent recovery. *Planta*, 1992, **186**: 179–187
- [18] Portis AR Jr. The regulation of Rubisco by Rubisco activase. *Journal of Experimental Botany*, 1995, **46**: 1285–1292
- [19] Li W-F (李卫芳), Wang Z (王忠), Han Y (韩鹰), *et al.* Purification and activity characteristics of Rubisco activase from wheat leaves. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2002, **35**(8): 929–933 (in Chinese)
- [20] Portis AR Jr. Rubisco activase—Rubisco's catalytic chaperone. *Photosynthesis Research*, 2003, **75**: 11–27
- [21] Portis AR Jr. Regulation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, **43**: 415–437

作者简介 姜振升,男,1985年生,硕士研究生.主要从事蔬菜栽培与生理生态研究. E-mail: jzssdau@163.com

责任编辑 张凤丽
