

干旱对玉米幼苗 PEP 羧化酶活性的影响

董永华 史吉平 韩建民

(河北农业大学农学系, 保定 071001)

Effect of Soil Drought on PEP Carboxylase Activity in Maize Seedlings

Dong Yonghua Shi Jiping Han Jianmin

(Dept. of Agron. Hebei Agri. Univ. , Baoding 071001)

Abstract: Changes in the activity of PEP carboxylase were studied in soil drought treatment followed by rewatering. The results showed that PEP carboxylase activity declined from $0.352 \mu\text{mol CO}_2/\text{mg} \cdot \text{pro} \cdot \text{min}$ to 0.063 with the increase of intensity and duration of soil drought. Upon rewatering, the enzyme activity recovered slowly and finally remained lower level ($0.17 \mu\text{mol CO}_2/\text{mg} \cdot \text{pro} \cdot \text{min}$) even though the water potential of the leaf had returned to the initial water potential before drought (-0.3 MPa). The leaf water potential and the content of chlorophyll decreased markedly, but the stomatal resistance increased with decreasing of soil water content. In the early period of soil drought the photosynthesis rate increased markedly and then decreased as water stress became more severe. Photosynthesis rate can not recovered completely after rewatering. Above-mentioned results lead to the assumption that the reduction of the PEP carboxylase activity resulted from a nonstomatal factor that limited leaf photosynthesis under drought stress.

Key words: Maize; PEP carboxylase; Photosynthesis rate; Stomatal resistance; Soil drought.

摘要 本文研究了土壤干旱过程中及复水后玉米幼苗 PEP 羧化酶活性的变化。结果表明, 当土壤含水量由 21.0% 降至 6.1% 时, PEP 羧化酶活性由 $0.352 \mu\text{mol CO}_2/\text{mg} \cdot \text{pro} \cdot \text{min}$ 降至 $0.063 \mu\text{mol CO}_2/\text{mg} \cdot \text{pro} \cdot \text{min}$, 复水后其活性恢复很慢, 即使叶水势恢复到干旱前水平 (-0.3 MPa), 此酶活性才恢复到 $0.17 \mu\text{mol CO}_2/\text{mg} \cdot \text{pro} \cdot \text{min}$, 仅为干旱前的 47.4% 。光合速率先升后降, 叶绿素含量和叶片水势的变化与 PEP 羧化酶相似, 气孔阻力则随土壤干旱程度的加剧而逐渐升高。说明土壤干旱过程中玉米幼苗 PEP 羧化酶活性的降低可能是光合作用下降的非气孔因素之一。

关键词 玉米 PEP 羧化酶 光合速率 气孔阻力 土壤干旱

干旱导致植物光合作用减弱是作物减产的一个重要原因。光合作用下降有气孔因素限制和非气孔因素限制两个方面, 二者对植物光合速率的影响已有大量报道^(1,3,6,10), 但土壤干旱对植物 PEP 羧化酶活性的影响报道较少。冯福生等研究表明⁽²⁾, 在快速水分胁迫

条件下, 小麦幼苗的 PEP 羧化酶活性显著下降。谭克辉等⁽⁴⁾以大豆幼苗为材料, 研究了高温、干旱条件下其 PEP 羧化酶活性变化,

本文为“八·五”农业部“重点应用基础研究”项目中的一部分。

收稿日期 1994-11-01

结果 PEP 羧化酶活性显著升高。看来 C_3 植物 PEP 羧化酶对水分胁迫的反应因植物种类和胁迫方式的不同而不同。玉米是 C_4 植物, PEP 羧化酶是其主要的光合羧化酶, 但土壤干旱对玉米幼苗 PEP 羧化酶活性的影响报道较少。本文以盆栽的方式研究了土壤干旱对玉米幼苗 PEP 羧化酶活性的影响。

1 材料与方法

1.1 幼苗培养及处理方法

供试玉米品种为掖单 4 号, 将萌动的种子播在塑料盆中(内装试验地耕层土 2300g, 沙:土=1:4), 每盆播 60 株, 播 9 盆, 置于人工培养室内, 每天照光 12 小时, 光强 8000~10000Lux, 昼夜温度为 30℃/22℃, 待幼苗长至三叶一心期, 停止供水, 自然干旱。

1.2 测试项目及方法

1.2.1 酶液制备 酶提取液为粗提液。叶片在取样前至少照光 2 小时, 取玉米幼苗第二叶 0.5g 放入预冷的研钵中, 加入 3ml 预冷的 100mM Tris- H_2SO_4 缓冲液(内含 7mM 巯基乙醇, 1mM EDTA, 5%甘油和 1%聚乙烯吡咯烷酮, pH8.2), 迅速研磨, 匀浆液于 15000xg 4℃离心 20 分钟, 上清液即为酶粗提液。

1.2.2 PEP 羧化酶活性测定参照施教耐等^[5]的方法并稍加改动。反应液(内含 1ml 100mM Tris- H_2SO_4 缓冲液, pH9.2; 1ml 酶提取缓冲液; 0.1ml 10mM $MgCl_2$; 0.1ml 10mM $NaHCO_3$; 0.2ml 40mM PEP; 0.3ml 1mg/ml NADH, pH8.9; 过量的苹果酸脱氢酶(10.5u)0.3ml)混匀后, 于恒温水浴 28℃预温 10 分钟, 用 200 μ l PEP 羧化酶溶液启动反应, 迅速在 340nm 测 OD 值下降, 记录 3 分钟。酶活性以 μ mol CO_2 /mg $\cdot$ pro $\cdot$ min 表示。

1.2.3 光合速率用 QZD-07 型红外线 CO_2 分析器测定。气孔阻力采用美国产的 LI-1600 稳态气孔计测定。水势用 ZLZ-4 型植

物水分状况测定仪(压力室)测定。叶绿素测定采用 Arnon 法^[7]以占干重百分比表示。可溶性蛋白用 Lowry^[9]法测定。

2 结果与分析

2.1 干旱对玉米幼苗 PEP 羧化酶活性及光合速率的影响

随着土壤含水量的逐渐降低(图 1), 玉米幼苗的 PEP 羧化酶活性也逐渐降低(图 2)。当土壤含水量降到 6.1%时, 玉米幼苗的 PEP 羧化酶活性下降到 0.063 μ mol CO_2 /mg $\cdot$ pro. min, 仅为干旱前的 17.9%, 复水后 PEP 羧化酶活性有所恢复, 但未恢复到干旱前水平, 为干旱前的 47.4%。光合速率与 PEP 羧化酶不同, 在干旱处理的前几天光合速率逐渐升高, 当土壤含水量降到 9.2%时, 光合速率开始下降, 复水后, 光合速率略有回升。

在干旱处理的前几天, 玉米幼苗的 PEP 羧化酶活性就呈下降趋势, 而光合速率则逐渐升高。说明 PEP 羧化酶活性在干旱的前期对光合作用的限制作用不大, 而气孔因素限制则可能是限制光合的主要因素^[6]。

2.2 干旱对玉米幼苗叶绿素含量的影响

图 3 表明, 干旱早期叶绿素含量变化不大, 而后期叶绿素含量明显下降, 当土壤含水量降为 6.1%, 叶绿素含量已降为 0.85%, 为干旱前的 70.8%。复水后叶绿素含量不能恢复。干旱后期叶绿素含量显著降低, 也是光合速率下降的非气孔限制因素之一。

2.3 干旱对玉米幼苗叶片水势及气孔阻力的影响

随着土壤含水量的降低, 玉米幼苗叶片水势逐渐降低(图 4)。当土壤含水量降到 6.1%时, 叶水势已降到 -1.34MPa, 比干旱前降低 1.08MPa, 此时玉米叶片已明显萎蔫。叶水势降低的同时, 气孔阻力则逐渐增加, 干旱 5 天后气孔阻力增加到干旱前的 307.7%。复水后叶水势和气孔阻力基本上恢复到干旱前水平。

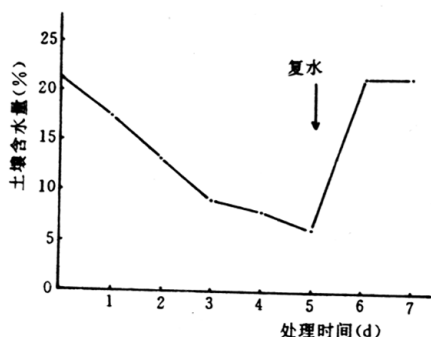


图1 土壤含水量随时间的变化

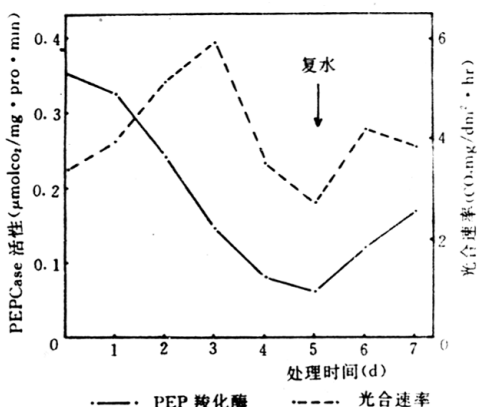


图2 干旱对玉米幼苗PEPCase及光合速率的影响

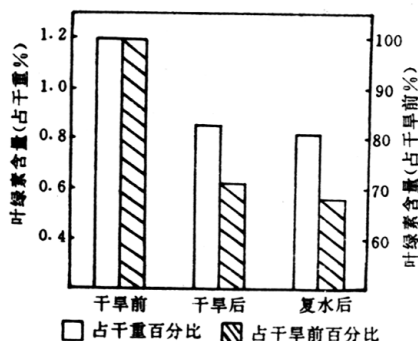


图3 干旱对玉米幼苗叶绿素含量的影响

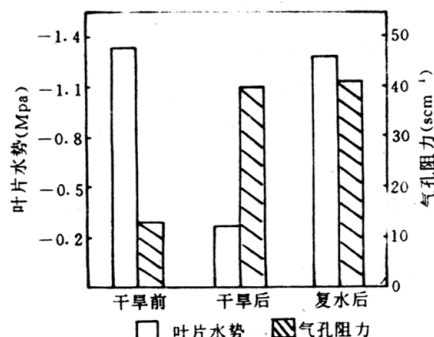


图4 干旱对叶片水势和气孔阻力的影响

见用玉米作材料研究干旱对 C_4 植物 PEP 羧化酶活性的影响比较合适。本研究结果表明,干旱抑制玉米幼苗的 PEP 羧化酶活性,这与冯福生等^[2]用小麦幼苗进行快速水分胁迫试验所得结果相似,但与谭克辉等^[4]用大豆所做的缓慢干旱试验结果相反,在缓慢的土壤干旱过程中,大豆的 PEP 羧化酶活性逐渐升高,我们用土培小麦幼苗所做的试验也证实了这一点(董永华等,待发表)。说明 C_4 植物与 C_3 植物的 PEP 羧化酶对水分胁迫反应不同,同是 C_3 植物,不同胁迫方式对 PEP 羧化酶活性的影响亦不同。 C_4 植物与 C_3 植物 PEP 羧化酶对水分胁迫反应不同的原因还有待进一步研究。

本试验还表明,在土壤逐渐干旱过程中,玉米幼苗的 PEP 羧化酶活性虽然逐渐下降,但其光合速率却有一个上升的过程,只有当土壤含水量降到一定程度后,光合速率才下降。这时玉米幼苗的气孔阻力也已显著增大,说明玉米幼苗 PEP 羧化酶活性降低对其光合作用的限制作用是次要的,气孔阻力增加则可能是光合作用下降的主要原因。

3 讨论

PEP 羧化酶是 C_4 植物的主要光合羧化酶,其作用主要是固定 CO_2 ,在玉米中 PEP 羧化酶大约占全部可溶性蛋白的 15%^[8],可

参考文献

- [1]王邦锡等,水分胁迫导致小麦叶片光合作用下降的非气孔因素,《植物生理学报》,1992,18(1):77-84
- [2]冯福生等,水分胁迫对不同抗旱性冬小麦品种 PEPCase 活性的影响,《华北农学报》,1990,第5卷增刊:76-82

- [3]刘孟雨等,水分胁迫条件下气孔与非气孔因素对小麦光合的限制,《植物生理学通讯》,1990,(4):24—27
- [4]那松青等,C₃植物中 RuBP 羧化酶和 PEP 羧化酶在碳素同化中的作用,《植物生理学教学研究参考文集》——理论进展及其在生产中的应用,北京植物生理学会编印,1987,67—82
- [5]施教耐等,植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的研究 I,高粱叶片 PEP 羧化酶的分离和变构特性的比较,《植物生理学报》,1979,5:226—235
- [6]徐世昌等,水分胁迫下玉米叶片光合限制因素分析,《玉米科学》,1993,(2):63—67
- [7]Arnon, D. I., Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 1949, (24), 1—15
- [8]Hague D R, Sims T L, Evidence for Light-stimulated Synthesis of Phosphoenolpyruvate Carboxylase in Leaves of Maize, *Plant Physiol.* 1980, (66): 505—509
- [9]Lowry O. H. et al. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *T. Biol. Chem.*, 1951, 193: 265—275
- [10]Percy, R. W., In, Limitations to efficient water use in crop production. Taylor, H. M. et al (eds), ASA-ESA-SSSA. 1983, PP277—286