

茉莉酸甲酯对水稻幼苗光呼吸代谢的影响

吴文华* 潘瑞炽

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

摘要 经 2.5×10^{-4} mol/L 茉莉酸甲酯(MJ) 处理后的水稻幼苗, 在处理后的第2天即表现出 RuBP 加氧酶活性的明显升高, 至处理后第4天, 叶片中乙醇酸氧化酶的活性也升高, 同时叶片中的乙醇酸累积量也明显高于对照。经 α -HPMS 预处理后的幼苗叶片材料中, 这种乙醇酸累积量升高的程度更大, 表明 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理能促进水稻幼苗光呼吸的增强, 但 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理对叶片中乙醇酸的累积和光呼吸过程中的有关酶系没有影响。

关键词 茉莉酸甲酯; 水稻; RuBP 加氧酶; 乙醇酸氧化酶; 乙醇酸

EFFECT OF METHYL JASMONATE ON THE PHOTORESPIRATORY METABOLISM OF RICE SEEDLINGS

Wu Wenhua* Pan Ruichi

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract Rice seedlings treated with methyl jasmonate (MJ) showed that the activity of RuBP oxygenase in leaves was apparently increased since the second day after 2.5×10^{-4} mol/L MJ treatment, and the activity of glycolate oxidase markedly increased on the fourth day. Meanwhile the accumulation of glycolate in leaves of rice seedlings was also enhanced, and the content of glycolate was increased more markedly when the leaves were pretreated with α -HPMS. These results indicated that the treatment with 2.5×10^{-4} mol/L MJ could hasten the photorespiration of rice seedlings. But the accumulation of glycolate and the activities of some enzymes related to photorespiratory process were not affected by the treatment with 2.5×10^{-7} mol/L MJ.

Key words Methyl jasmonate; *Oryza sativa*; RuBP oxygenase; Glycolate oxidase; Glycolate

自从1962年 Demole 等^[1]首次发现并分离出了茉莉酸甲酯 (Methyl jasmonate, 简称 MJ) 以来, 经过30多年的研究, 已发现了许多在结构及功能上与茉莉酸甲酯相类似的化合物^[2,3], 被统称为茉莉酸类物质。至目前的研究已经发现, 这类物质对植物体生长发育所起的广泛生理作用主要集中在两个方面, 即对生长的抑制和对衰老脱落的促进^[4]。目前这类物质已被公认为是一种天然的植物生长调节物^[2,3,5]。然而关于 MJ 对植物幼苗的光合作用及光呼吸等

* 现工作单位: 湖北大学生命科学系, 武汉 430062

Present address: Department of Life Sciences, Hubei University, Wuhan, 430062

1996-12-09 收稿; 1997-05-07 修回

碳代谢方面的生理效应尚未见报道。本文以水稻幼苗为材料,着重研究了MJ对水稻幼苗光呼吸代谢的影响。

1 材料与方 法

供试水稻 (*Oryza sativa* L.) 为籼型品种野青占。种子经饱和的漂白粉溶液消毒 30 min 后,用自来水冲洗干净,放入生化培养箱于 28 °C 催芽 2 d,选取发芽一致的种子播于铺有二层纱布的培养皿中(直径 12 cm),用 Espino 营养液培养^[6]。以白色荧光灯作为光源,光照强度用 F-DM 型数字式太阳辐照度计(北京师范大学光电仪器厂生产)测定为 280 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。每天光/暗周期为 12 h/12 h,培养室温度控制在 25 ± 1 °C,相对湿度 70%。

MJ 浓度处理 幼苗生长至二叶一心期(2.5 叶左右),开始用 MJ 处理,处理前每培养皿保留 100 株生长健壮且均匀一致的幼苗,处理时间为当日 8—10 点。MJ 的浓度分别为 2.5×10^{-7} mol/L、 2.5×10^{-4} mol/L,每皿中 MJ 用量为 100 ml。

RuBP 加氧酶(EC 4.1.1.39)的活性测定 用氧电极按王维光的方法^[7]进行。

乙醇酸氧化酶(EC 1.1.3.1)的活性测定 采用 Baker 和 Tolbert 的分光光度法^[8]改进测定。反应混合液 3 ml,含有 100 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH8.3),3.3 mmol/L 半胱氨酸盐酸盐,3.3 mmol/L 盐酸化苯肼(现用现配),10 mmol/L 乙醇酸钠和 0.2 ml 酶提取液。在加入乙醇酸钠之前,混合液在 30 °C 保温 10 min,然后加入乙醇酸钠开始反应,用岛津 UV-2100 分光光度计在 324 nm 处每隔 30 sec 记录一次消光值的变化,连续测定 15 min。

乙醇酸含量的测定 取各处理叶片 0.5 g 左右,切成 1 cm 左右长,分别放入蒸馏水及 10 mmol/L α -HPMS 溶液中处理,在 25 °C,200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光强下照光 1 h。按 Zelitch 的方法^[9,10]略作改进以提取叶片中的乙醇酸。改进步骤为离心后的上清液用 10 ml 乙醚萃取 1 h,得到下层液再用 5 ml 乙醚萃取 1 h,以彻底除去色素,然后用 Dowex 1- \times 10 乙酸型离子交换树脂分离乙醇酸。最后参照 Calkins 的方法^[11]进行乙醇酸含量的测定。

蛋白质含量的测定 按 Peterson 的方法^[12]进行。

实验结果用统计学方法进行处理,下面各图表中所有数据均为三次重复实验结果的平均值,每次实验取 20 株幼苗进行测量。

2 结果与分析

2.1 MJ对水稻幼苗叶片中 RuBP 加氧酶活性的影响

2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理,对水稻幼苗叶片中 RuBP 加氧酶的活性没有影响。 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理,从处理后第 2 天起幼苗叶片中 RuBP 加氧酶的活性即明显地升高(图 1),该浓度 MJ 在处理第 2、4、6、8 天,叶片中 RuBP 加氧酶的活性分别比对照升高 22.96% ($p < 0.05$)、23.21% ($p < 0.01$)、41.06% ($p < 0.01$)、32.64% ($p < 0.05$)。此外我们发现 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理下,RuBP 羧化酶活性的变化趋势与 RuBP 加氧酶的完全相反,结果导致 RuBP 羧化酶/RuBP 加氧酶明显低于对照(表 1)。

表 1 2.5×10^{-4} mol/L MJ 对水稻幼苗叶片中 RuBP 羧化酶和加氧酶活性比的影响

Table 1 Effect of 2.5×10^{-4} mol/L MJ on the ratio of activities RuBPC/RuBPO in leaves of rice seedlings

处理后天数 Days after treatment	对照 Control			MJ 处理 Treatment with MJ			RuBPC/RuBPO 与对照的百分比 Ratio of RuBPC to RuBPO activi- ties in leaves(%)
	RuBPC 活性	RuBPO 活性	RuBPC/ RuBPO	RuBPC 活性	RuBPO 活性	RuBPC/ RuBPO	
0	0.366	0.125	2.93	0.366	0.125	2.93	100.00
2	0.406	0.135	3.01	0.382	0.166	2.30	76.41
4	0.697	0.168	4.15	0.468	0.207	2.26	54.46
6	0.597	0.151	3.95	0.315	0.213	1.48	37.47
8	0.559	0.144	3.88	0.287	0.191	1.50	38.66

表中 RuBPC 活性单位为 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ pro min}^{-1}$, RuBPO 活性单位为 $\mu\text{mol O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ pro min}^{-1}$

2.2 MJ 对水稻幼苗叶片中乙醇酸氧化酶活性的影响

图 2 表明, 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理, 明显地促进了幼苗叶片中乙醇酸氧化酶活性的提高, 这种促进作用从处理后第 4 天起即出现, 但以后有减弱的趋势。处理后第 4、6、8 天, 叶片中乙醇酸氧化酶活性分别为对照的 134.40%、119.65%、112.63%, 均与对照达到了 0.05 的差异显著水平, 而 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理对叶片中乙醇酸氧化酶活性的影响未与对照达到差异显著水平。

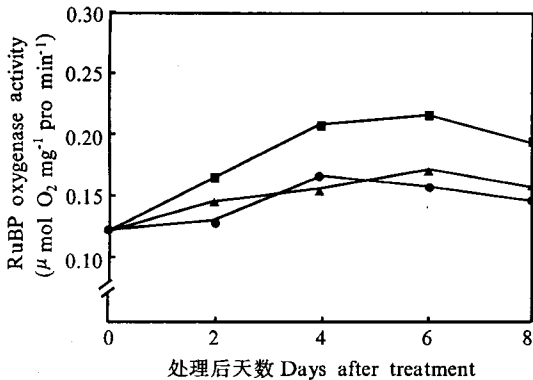


图 1 MJ 对水稻幼苗叶片中 RuBP 加氧酶活性的影响

Fig. 1 Effect of MJ on the activity of RuBP oxygenase in leaves of rice seedlings

- 对照 Control; ▲ 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理, Treatment with MJ 2.5×10^{-7} mol/L;
- 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理, Treatment with MJ 2.5×10^{-4} mol/L (下同, Same for Fig. 3, 4)

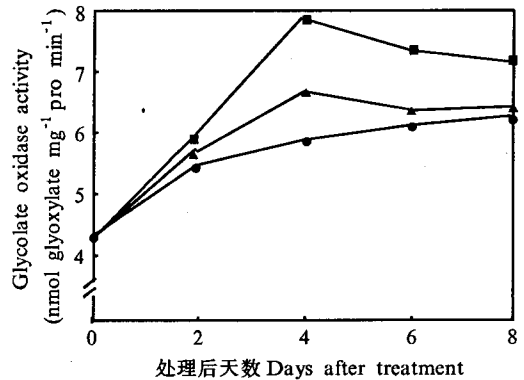


图 2 MJ 对水稻幼苗叶片中乙醇酸氧化酶活性的影响

Fig. 2 Effect of MJ on the activity of glycolate oxidase in leaves of rice seedlings

2.3 MJ 对水稻幼苗叶片中乙醇酸累积量的影响

图 3 表示 MJ 处理对幼苗叶片中乙醇酸累积量的影响。统计结果表明: 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理, 对幼苗叶片中乙醇酸的累积没有影响(统计结果表明差异不显著), 但 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理则明显地促进了幼苗叶片中乙醇酸的累积, 该浓度的 MJ 处理后第 4、6、8 天叶片中乙醇酸的累积量分别是各自对照的 127.19%、172.78%、199.06%, 与对照均达到了 0.05 的差异显著水平。

经 α -HPMS 处理后(图 4), 各处理叶片中乙醇酸的累积量明显增高, 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理从处理后第 2 天起就极显著地促进叶片中乙醇酸的累积, 其叶片中乙醇酸含量在处理第 2、4、6、8 天均与对照达到了 0.01 的差异显著水平, 并分别比对照增加 26.32%、45.09%、56.83%、60.88%。但 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理的叶片在经 α -HPMS 处理后, 叶片中乙醇酸含量未与对照达到差异显著性水平。

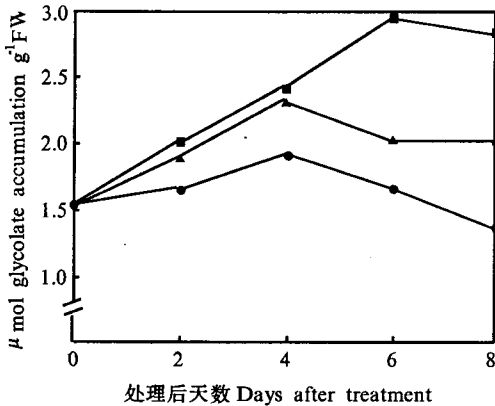


图 3 MJ 对水稻幼苗叶片中乙醇酸累积量的影响

Fig. 3 Effect of MJ on the accumulation of glycolate in leaves of rice seedlings

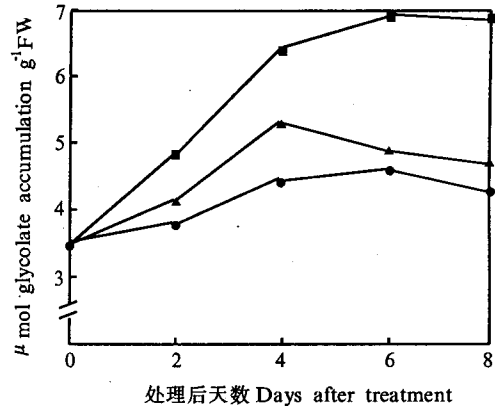


图 4 MJ 对水稻幼苗经 α -HPMS 预处理的叶片中乙醇酸累积量的影响

Fig. 4 Effect of MJ on the accumulation of glycolate in leaves of rice seedlings pretreated by α -HPMS

3 讨论

水稻是一种典型的 C_3 植物, 其光合作用的碳素固定途径是通过卡尔文循环来实现的。在 C_3 植物中, 双功能的 RuBP 羧化酶/加氧酶(简称 Rubisco)是决定其光合碳代谢效率的关键酶^[13-15], 它催化光合碳循环中第一步 RuBP 的羧化反应, 同时又催化 RuBP 的加氧反应, 导致光呼吸作用的进行。本文通过对 MJ 影响水稻幼苗的实验, 结果发现 2.5×10^{-7} mol/L MJ 可以促进水稻幼苗的生长, 而 2.5×10^{-4} mol/L MJ 则明显地抑制水稻幼苗的生长^[16], 所以在此文中我们研究了以上两个浓度 MJ 处理对水稻幼苗叶片光呼吸代谢的影响。

Popova 等^[17]通过研究茉莉酮酸(jasmonic acid)对七天龄大麦幼苗的光合碳代谢的影响后认为: 2.5×10^{-7} mol/L - 2.5×10^{-4} mol/L Ja 处理对大麦幼苗叶片中 RuBP 加氧酶的活性没有影响, 但可降低大麦幼苗光合 CO_2 固定速率及 RuBP 羧化酶的活性, 促进幼苗光呼吸速率的提高, 并认为幼苗光呼吸速率的提高在一定程度上可以解释 Ja 对大麦幼苗生长的抑制。本文的研究结果表明: 2.5×10^{-7} mol/L MJ 处理对水稻幼苗叶片的光呼吸代谢过程没有影响, 而 2.5×10^{-4} mol/L MJ 处理则明显地升高了水稻幼苗叶片中 RuBP 加氧酶的活性, 另一方面它又降低 RuBP 羧化酶的活性(资料待发表), 所以导致羧化酶与加氧酶的活性比明显低于对照, 这是促进幼苗光呼吸增强的表现。通过对幼苗叶片中乙醇酸氧化酶及乙醇酸累积量的测定, 进一步证实了该浓度 MJ 处理对水稻幼苗光呼吸确实具有促进作用。 2.5×10^{-4} mol/L MJ 对水稻幼苗叶片光呼吸增强的促进作用及其对水稻幼苗生长的抑制(资料待发表), 与 Popova 等^[17]使用 Ja 对大麦幼苗的研究报道相似。但 MJ 的这种生理功能尚有待进一步的研究。

参考文献

- 1 Demole E, Lederer E, Mercier D. Isolement et determination de la structure de jasmonate de methyl, constituant odorant caracteristique de l'essence de jasmin. *Helv Chim Acta*, 1962, 45:675-685
- 2 潘瑞炽, 李海航. 茉莉酸—天然生长抑制剂. *植物生理学通讯*, 1989, (2):78-80
- 3 Parthier B, Bruckner C, Dathe W et al. Jasmonates, biological activity and modes of action in senescence and stress responses. In: Karssen C M, Vanloon L C, Vreugdenhil D eds. *Progress in Plant Growth Regulation*, 1992, 276-285
- 4 Sembdner G, Parthier B. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, 44:569-589
- 5 Meyer A, Miersch O, Buttner C et al. Occurrence of the plant growth regulator: jasmonic acid in plants. *J Plant Growth Regul*, 1984, 3:1-8
- 6 崔征, 樊梦康. 水稻无机矿物营养的研究 I. 水稻不同生育期缺磷的影响. *作物学报*, 1962, 1(1):61-66
- 7 王维光. 二磷酸核酮糖 (RuBP) 加氧酶的测定. 上海植物生理学会编. *植物生理学实验手册*. 上海: 上海科技出版社, 1985, 123-125
- 8 Baker A L, Tolbert N E. Glycolate oxidase (Ferredoxin-containing form). In: Wood W A ed. *Methods in Enzymology*, V. IX. Carbohydrate Metabolism. Academic Press. New York, 1966, 288-457
- 9 Zelitch I. The role of glycolic acid oxidase in the respiration of leaves. *J Biol Chem*, 1958, 233:150-157
- 10 Zelitch I. Alternative pathways of glycolate synthesis in tobacco and maize leaves in relation to rates of photorespiration. *Plant Physiol*, 1973, 53:299-305
- 11 Calkins V P. Colorimetric determination of glycolic acid. *Anal Chem*, 1943, 15:99-100
- 12 Peterson G L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al., which is more generally applicable. *Anal Biochem*, 1977, 83:346-356
- 13 Jensen R G, Bahr J T. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Annu Rev Plant Physiol*, 1977, 28:379-400
- 14 Kelly G T, Latxko E. Regulatory aspects of photosynthetic carbon metabolism. *Annu Rev Plant Physiol*, 1976, 27:181-205
- 15 Ogren W L. Photorespiration: pathways, regulation and modification. *Annu Rev Plant Physiol*, 1984, 35:851-859
- 16 吴文华, 潘瑞炽. 茉莉酸甲酯对水稻幼苗生长的影响. *植物生理学通讯*, 1997, 33(1):21-24
- 17 Popova L P, Tsonev T D, Vaklinova S G. Changes in some photosynthetic and photorespiratory properties in barley leaves after treatment with jasmonic acid. *J Plant Physiol*, 1988, 132:257-261