

文章编号: 1005-0906(2003)02-0073-02

玉米幼苗硝酸还原酶活性受低温的影响

龚士琛

(黑龙江省农科院玉米研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 低温可能引起细胞膜和内膜系统的透性及功能发生改变, 也可能引起细胞代谢水平发生改变, 这些改变都可引起细胞质中和 NO_3^- -HADH 水平及 ATP 水平的改变, 所以其体内硝酸还原酶活性必然受影响。2 叶期玉米受冷害后, 叶片中的硝酸还原酶活性显著增加, 并且有光冷害处理比无光冷害处理更有利提高叶片中硝酸还原酶的活性。

关键词: 玉米; 硝酸还原酶; 有光冷害; 无光冷害

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

The Influence of Nitric Acid Reductase Active in Maize Seedling Stage in Low Temperature

GONG Shi-chen

(Maize Research Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Harbin 150086, China)

Abstract: The transmissivity and function of the cell membrane and system inside the membrane, and also the level of cell metabolism in the seedling of maize can be changed by the low temperature. The change can influence the content of NO_3^- , HADH and ATP in the cell cytoplasm, and also the active of reductase in the seedling consequentially. The active of nitric acid reductase in the leaf can enhance remarkably after cold damage in the two-leaf stage. The cold treatment in light can conduce to enhance the active of nitric acid reductase in the leaf than in dark.

Key words: Maize; Nitric acid reductase; Cold damage in light; Cold damage in dark

自 20 世纪 50 年代以来, 人们开始对硝酸还原酶进行研究。1957 年汤佩松等报道了硝酸还原酶是一种诱导酶, 现在已证明了高等植物的硝酸还原酶的活性与 NADH 有关, 硝酸还原酶活性高低受光、温度、水分、 O_2 分压、 CO_2 分压、氮素营养状况、ATP 等因素的调节。在抗性生理的研究中, 发现硝酸还原酶活性高低与植物的抗性有关。由于硝酸还原酶是硝酸还原的调节限速酶, 所以对植物受冷害或干旱时硝酸还原酶活性变化的研究是有实际意义的。本文初步研究探讨了低温对硝酸还原酶活性的影响, 并考察了有光和无光等因素, 利用统计分析的方法, 说明冷害情况下, 玉米幼苗体内硝酸还原酶活性变化的显著性及其可能的生理意义。

1 材料及方法

1.1 材料培养与处理

将玉米种子在 $18 \sim 25^\circ\text{C}$ 水温下浸种 24 h, 放入

培养皿中培养 48 h 后, 种入花盆, 在光、暗各 12 h, 日温 $23 \sim 25^\circ\text{C}$, 日光照强度 5 000 lx; 夜温为 $18 \sim 20^\circ\text{C}$ 的培养箱内培养至 2 叶期。花盆的上口径约为 10 cm, 内装有用 Hoag-land 培养液浸过的土壤, 每盆种 10 株。在花盆中生长到 12 d 左右, 在暗期结束(还没给光照)时进行下列处理。

(1) 无光冷害: 放在 $2 \sim 4^\circ\text{C}$ 的无光冰箱中进行, 处理期间不供水。

(2) 无光对照: 在 $18 \sim 20^\circ\text{C}$ 的无光温箱中进行, 处理期间适当供水一次, 以免干旱。

(3) 有光冷害: 温度在 $0 \sim 5^\circ\text{C}$, 光暗各 12 h, 日光照强度为 1 200 lx 的冰箱中进行, 处理期间不另供水。

(4) 有光对照: 温度在 $18 \sim 20^\circ\text{C}$, 光暗各 12 h, 日光照强度为 1 200 lx 的温箱中进行, 处理期间适当供水一次, 以免干旱。

1.2 测定方法

处理 48 h 后开始测定, 具体方法如下: 用孔径为 0.75 cm 的打孔器打取第一片叶子和第二片叶子各 25 片, 放入一个 50 mL 的三角瓶中, 三角瓶内预

收稿日期: 2002-09-18

作者简介: 龚士琛(1964-), 男, 黑龙江省农科院玉米研究中心抗病育种室主任, 副研究员, 主要从事玉米育种和新品种开发。

先加好由 0.1 mol 的 KH_2PO_4 溶液和 0.1 mol 的 K_2HPO_4 溶液配制的 pH 值为 7.5 缓冲液 5 mL; 0.5 mmol 的蔗糖溶液 1 mL; 0.2 mol 的 KNO_3 溶液 5 mL, 10^{-3} mol 的 DNP 溶液 1 mL, 把三角瓶放在真空干燥器内抽气, 至叶片完全沉下, 放入 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 的黑暗温箱中保温 30 min 后, 煮沸 2 min, 以使 NO_2^- 充分从叶片中析出。冷却到室温后, 用移液管吸取 2 mL 加入到试管中, 再向试管中加入 1 mL 1% 的磺胺试剂。1 mL 0.02% 的盐酸萘乙二胺溶液, 摇匀后, 放置 20 min, 用 721 分光光度计在 540 nm 波长处比色测定。每个处理重复十次, 每次设两个样本。

2 结果及分析

2 叶期的玉米苗, 经上面的 4 个不同处理后, 表现出: 有光冷害处理的伤害最重, 叶子的上三分之一左右萎蔫干枯; 无光冷害处理的没有这种现象。无光对照处理的第二叶已经黄化、有光对照处理的则保持正常, 10 次重复 4 个处理所测得的光密值列入表 1, 把用统计方法算得的一系列数据列入表 2 和表 3, 其次是无光冷害处理的, 以后依次为有光对照处理的, 无光对照处理的。并且它们四者之间的差别都达到了极其显著的水平。这就说明冷害处理对植物体内硝酸还原酶活性的影响, 具有很值得探讨的生物学意义。反映出来的总体规律是: 在其它条件相同的情况下, 冷害处理的比非冷害处理的硝酸还原酶活性高; 有光处理的比无光处理的硝酸还原酶活性高。

表 1 10 次试验的光密度值

重复次数	无光冷害	无光对照	有光冷害	有光对照	平行样数
	1	2	3	4	
1	0.263 6	0.060 0	0.275 7	0.180 5	2
2	0.229 1	0.052 1	0.284 0	0.139 7	2
3	0.136 7	0.091 5	0.296 7	0.148 7	2
4	0.124 4	0.073 1	0.271 4	0.112 9	2
5	0.236 6	0.119 2	0.449 8	0.187 1	2
6	0.259 6	0.154 9	0.376 8	0.214 7	2
7	0.154 9	0.086 2	0.277 4	0.180 5	2
8	0.167 5	0.148 7	0.251 8	0.148 7	2
9	0.167 5	0.136 7	0.190 4	0.130 8	2
10	0.236 6	0.096 9	0.301 0	0.119 2	2

表 2 各处理的一般统计值 *

统计值	无光冷害	无光对照	有光冷害	有光对照
	1	2	3	4
δ_{m-1}	0.052 6	0.036 4	0.070 6	0.033 1
$\bar{X}$	0.197 7	0.101 9	0.297 5	0.156 3
δ_n^{-1}	$2.770 7 \times 10^{-3}$	$1.328 3 \times 10^{-3}$	$4.977 6 \times 10^{-3}$	$1.092 4 \times 10^{-3}$

* 由于数理统计过程十分繁琐, 所以没有把整个过程都写在这里, 只写下统计结果。

表 3 总体的对比显著性水平

	1 与 2 对比	3 与 1 对比	3 与 4 对比	4 与 2 对比
F 检验值	2.09	1.80	4.56	0.82
接受假设	H_0	H_0	H_A	H_0
t 值	4.73	3.59	5.72	3.49
单侧 0.05 水平	显著	显著	显著	显著
单侧 0.01 水平	极显著	极显著	极显著	极显著

备注: 只有 3 与 4 对比用 Alpin-Welch 检验, 其它均用 t 检验

3 讨论

在低温情况下, 植物体内硝酸还原酶活性增加与细胞膜透性增加有关。从实验结果看, 叶片中硝酸还原酶活性不仅与细胞的 ATP 水平有关, 而且与光暗等其它因素有关。这种关系似乎比正常 25°C 条件下的关系还复杂。因为这时不仅存在着植物对光的反应, 而且还存在着植物对低温的反应。在低温情况下, 大多数植物的光合速率明显下降, 低温对冷敏感植物光合机构的伤害在光照条件下比在黑暗中更为严重。

从硝酸还原酶的活性上看, 有光冷害处理的, 硝酸还原酶活性最高。一方面的可能是冷害的同时, 仍然存在着光合作用和光呼吸作用的结果; 另一方面可能是低温和光的协同作用使植物受害更严重的结果。目前已经证明, 高等植物的硝酸还原过程必须由 NADH 提供电子, 那么光合作用过程中产生的 HADPH 必须通过某种穿梭, 穿过叶绿体膜转变成 NADH 才能参与硝酸的还原, 而呼吸等过程产生的 NADH 则不需要任何形式的转变, 而只需由细胞器进入细胞质, 即能参与硝酸的还原过程。所以有光冷害引起叶绿体、线粒体功能及膜透性改变的情况下, 即使光合过程和呼吸过程产生的 NADPH 和 NADH 很少, 但细胞质中的 NADH 水平仍然可能提高。所以植物体内硝酸还原酶活性有可能提高, 同时 NADH 水平的改变, 使 NADH 与 ATP 水平之间的对比水平改变, 这样也可能提高硝酸还原酶活性。

无光冷害硝酸还原酶的活性增高, 可以完全排除光合作用过程和光呼吸等过程的直接影响。而光合产物在植物体内的一系列变化和一系列由低温引起的代谢变化倒是应该值得注意的。据报道植物在低温情况下, 抗氰呼吸加强。这一呼吸途径的加强是否与硝酸还原酶活性增高有关, 还缺少证据。不过从高温 (45°C) 情况下硝酸还原酶活性增高, 抗氰呼吸途径也增强的试验也能说明一些问题, 这有待于将来的进一步探讨。

总之, 在冷害情况下, 植物体内的(下转第 88 页)

(上接第 74 页)硝酸还原酶活性是增高的。这种活性增高,可能是酶量的增加,也可能是钝化形式向活性形式的转变,但对植物本身有没有积极意义,还有待于进一步探讨,也许这是植物受冷害的结果,也许是植物对不良环境适应的结果。但是研究植物在低温情况下,硝酸还原酶活性变化与其它各种代谢水平变化的相互联系都是有必要,可以为寒地育种等提供参考。

参考文献:

[1] 汤佩松,吴相钰.植物学报,1958(7):135-148.

- [2] 周树,郑相穆.植物生理学通讯,1985(1):47-49.
 - [3] 陈薇,张德颐.植物生理学通讯,1980(4):45-49.
 - [4] 林振武.植物生理学通讯,1985(2):32-34.
 - [5] 林振武.科学通报,1983(15):945-947.
 - [6] 孙国荣,等.植物生理学通讯,1996(6).
 - [7] 陈锦强,李明启.植物生理学通讯,1984(1):1-8.
 - [8] 张德颐,王业芹,汤玉玮.植物生理学报,1965,2(1):56-65.
 - [9] Aun Hasselt P. K; Van Berol H.A.C; 1980 Physiol Plant(50):52-56.
 - [10] Thomax. E et al. 1985 Plant Physiology(80): 378-383.
 - [11] Nollie Marissen Linus. H. W. et al. (1985) Plant Science 1986, 45 (1): 19-25.
 - [12] Bonyioni A et al. 1977 plant Sei Lett (9): 225-231.
- 联系电话: 0451-6681871(办),13703635268
E-mail: maizectr@163.com