

锌对冬小麦叶片碳酸酐酶活性的影响

韩金玲, 李雁鸣, 马春英

(河北农业大学 农学院 河北 保定 071001)

摘要:以 8901-11 和 4185 两个冬小麦品种为材料,研究了不同施锌水平对小麦叶片碳酸酐酶(CA)活性变化的影响规律。顶部功能叶的 CA 活性在起身后不断提高,至开花期达到最高之后下降。旗叶和倒三叶的 CA 活性均在展开后 7 或 14 d 达到最高值,以后基本是下降趋势,但也随植株生育节律和生态条件有升降变化。与倒三叶相比,旗叶 CA 活性的最高值较高。2 品种各施锌处理的 CA 活性均高于未施锌处理,且 3 个不同施锌量的 CA 活性在倒三叶和旗叶中的表现均略有不同。

关键词: 冬小麦; 锌; 碳酸酐酶

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2003)02-0021-05

Effect of Zinc on Activity of Carbonic Anhydrase in Winter Wheat Leaves

HAN Jin-ling, LI Yan-ming, MA Chun-ying

(College of Agronomy, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: With 8901-11 and 4185, two field-grown winter wheat varieties, the changing regulation of the effect of different zinc fertilization levels on the activity of carbonic anhydrase (CA) in leaves of winter wheat was determined. The activity of CA in top function leaves continually increased after double ridge stage and reached the maximum at flowering stage, then decreased. The activity of CA in flag leaf and the 3rd leaf from top all reached the maximum values at the 7th or 14th day after full expansion, then decreased gradually, but fluctuations still occurred with growing stages and ecological conditions. The highest value of CA activity in flag leaf was higher compared with that in the third leaf from top. The activity of CA in the treatments with zinc fertilization is higher than that without zinc fertilization for both varieties, and there were small differences in the activities of CA for the three zinc levels in the third leaf from top and the flag leaf.

Key words: Winter wheat; Zinc; Carbonic anhydrase

碳酸酐酶(CA)是普遍存在于动植物体内的一种酶。在植物中,它催化光合作用过程中可逆的二氧化碳水合反应,促进二氧化碳向固定位点的扩散^[1]。试验证明,随着 CA 活性的下降,光合速率也下降^[2~4]。然而,用 CA 抑制剂处理叶绿体,光合速率并没有降低^[5],这似乎表明,对于光合碳同化来说,CA 并不是必要的。另有报道,引入反义 RNA 使 CA 的 mRNA 失活,对烟草叶片光合碳同化没有

多大负面影响^[6]。还有研究认为,CA 含量远大于正常光合作用的需要,这使得 CA 活性对光合作用好象并不重要^[7]。虽然有这些不同观点,但是大部分研究者还是支持 CA 能增加叶绿体中二氧化碳固定位点的二氧化碳浓度的说法^[8,9]。

CA 是一种锌金属酶,被锌专性活化^[10]。关于二者的关系,国内外已进行的大量研究^[11~14]表明,当锌缺乏时 CA 活性下降,如果补充锌营养,酶活性

收稿日期: 2002-10-10

基金项目: 河北省博士资金(00547001D-6); 河北省教育厅项目(2001114); 河北农业大学 9816 科技计划资助项目

作者简介: 韩金玲(1975-),女,河北献县人,在读硕士,主要从事作物栽培生理研究工作,李雁鸣为通讯作者。

又逐渐上升达正常水平。但是当严重缺锌时,酶活性甚至会下降到零,这时即使再补充锌营养,酶活性也不能恢复。这是因为,在严重缺锌情况下 CA 作为锌库为植株供锌,去除锌以后的 CA 分子将永远失活^[15]。虽然,目前关于锌与 CA 活性的关系已做了大量研究,但多是在室内控制条件下的水培试验,对于大田复杂条件下锌对 CA 活性影响的研究较少,尤其锌对小麦不同生育期不同叶位 CA 活性的影响尚未见报道。而研究明确大田条件下施锌对碳酸酐酶活性的影响,对于探明锌对作物光合物质生产的影响机制和确定合理的锌肥施用技术,无疑具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验于 2001–2002 年度在河北农业大学教学基地试验田进行。试验地表层土壤基本性质: pH 7.2, 土壤有机质 10.21 g/kg, 全 N 0.905 g/kg, 碱解 N 43 mg/kg, 速效 P 10.12 mg/kg, 速效 K 113.23 mg/kg, 有效 Zn 0.7 mg/kg。

1.2 材料与试验设计

田间试验为 2 因素试验。一个因素为品种,采用 2 个冬小麦品种,一个为普通品种 4185,用 B 表示,另一个为优质专用品种 8901-11,用 A 表示。另一个因素为施锌量,设 4 个水平,分别为施硫酸锌 ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0(ck), 11.25, 22.5, 33.75 kg/hm²。用 A1, A2, A3, A4 和 B1, B2, B3, B4 分别代表 2 品种的 4 个施锌水平。采用裂区设计,品种为主区,施锌量为副区。3 次重复,小区面积为 12.5 m²。

播种前翻地、整地、起垄后施底肥并翻下。各处理均施底肥磷酸二铵 225 kg/hm²、尿素 150 kg/hm², 锌肥也做底肥施入。为了消除硫酸锌中硫的影响,用硫酸铵平衡硫素,然后用尿素平衡铵。按每公顷基本苗 375 万、行距 20 cm 条播。拔节期追施尿素 150 kg/hm²。

1.3 CA 活性测定方法

从小麦起身期开始,各生育时期取最上部两片功能叶的混合样,代表各时期的功能叶。另分别从倒三叶和旗叶全展时开始,每 7 d 取一次样测定 2 片叶的 CA 活性直到衰亡。

以上样品叶片 CA 活性的测定采用郭敏亮^[15]和 Rengel^[9]相结合的方法。每次取样后用冰壶带回室内,称鲜重并立即研磨至匀浆,提取液为巴比妥缓冲液(5 mmol/L 巯基乙醇, 10 mmol/L 巴比妥缓冲液, pH=8.2), 提取过程操作在冰水浴中进行。用湿纱布过滤匀浆,滤液在 4℃ 15 000 r/min 下离心 20 min, 上清液为待测液,用煮沸杀死的酶液做空白对照。酶活性用意大利哈纳产 pH 213 型酸度计监测 pH 变化,记录 pH 值下降 2 个单位的时间,测定缓冲液为巴比妥缓冲液(12 mmol/L 巴比妥缓冲液, pH=8.2)。

酶活性表示方法用下面公式^[14]:

酶活性(pH 单位·g⁻¹·100 s⁻¹) = (缓冲液 pH 值 - 反应后 pH 值) × 总体积 × 100 / 时间 × 试材重

2 结果与分析

2.1 锌处理对不同生育时期上部功能叶 CA 活性的影响

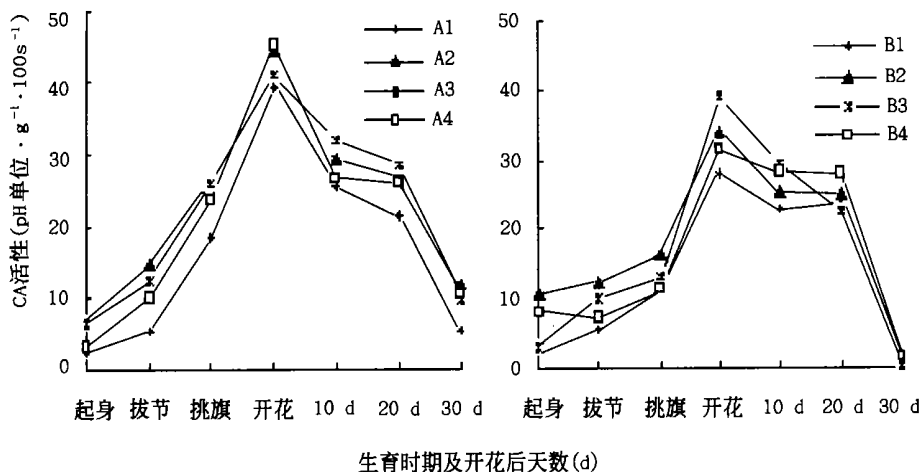


图1 不同施锌水平各生育时期上部功能叶的 CA 酶活性

由图 1 可见, 2 品种的 CA 活性起身期较低, 之后 8901-11 的酶活性迅速提高, 4185 在挑旗期后也迅速提高, 2 品种均在开花期达到最高值, 之后迅速下降, 但在开花后 10 d 至 20 d 之间出现一个缓降期。不同处理 CA 活性的变化趋势一致。

由图 1 可见, 不同施锌水平比较, 处理 2 酶活性一直高于处理 1 (ck)。处理 3, 4 不太稳定, 大部分测定值高于处理 1 而低于处理 2, 处理 4 一般又低于处理 3。若把各水平各时期测定值平均起来看, 则为 A1 (16.80) < A2 (22.91) > A3 (22.33) > A4 (20.70) 和 B1 (13.61) < B2 (18.00) > B3 (16.79) > B4 (16.58)。这说明, 在一定范围内增施锌肥可以提高 CA 活性, 但施锌过量会导致 CA 活性下降, 使上部功能叶 CA 活性较高的施锌量为 11.25 kg/hm^2 。

2.2 锌对旗叶 CA 活性的影响

由图 2 可见, 旗叶刚展开时 CA 活性较低, 之后

迅速提高, 展开后 7~14 d 达最大值, 21 d 后迅速下降。其中 A2 和 A3 处理在展开后 7 d 即达到最高水平, 并且都维持到 21 d 后才迅速下降。而 B1~B4 展开 7 d 后仍提高较快, 展开后 14 d 才达到最大值, 且施锌的 B2~B4 的最大值高于 A 品种相应施锌水平。这表明, 不同品种对施锌的反应不同, 8901-11 施锌后旗叶的 CA 活性较早达到最高水平并维持较长时间, 而 4185 施锌后旗叶 CA 活性的高峰值有较大幅度提高。

不同施锌量处理比较, 两品种处理 2 均高于处理 1, 处理 4 只在个别时期高于处理 2, 并在 21 d 后迅速下降, 甚至 28 d 时酶活性低于处理 1, 处理 3 的酶活性则与处理 2 互有高低。这说明, 合理增施锌肥能提高旗叶 CA 活性, 但施肥过多会降低酶活性, 使旗叶 CA 活性较高的施锌量约为 $11.25 \sim 22.5 \text{ kg/hm}^2$ 。

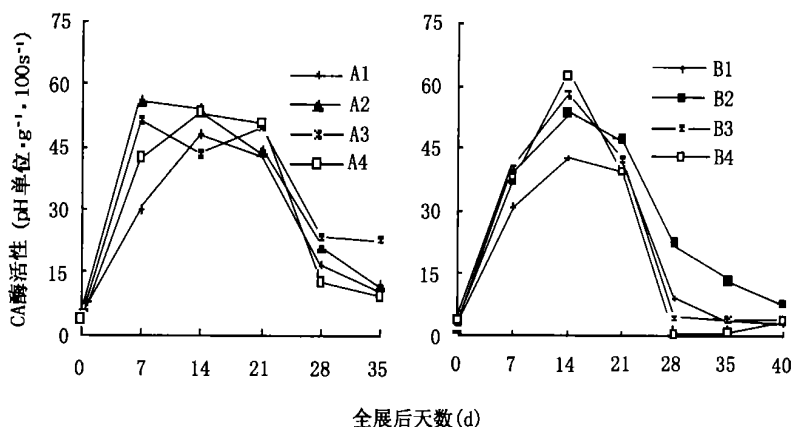


图 2 不同处理旗叶的 CA 酶活性

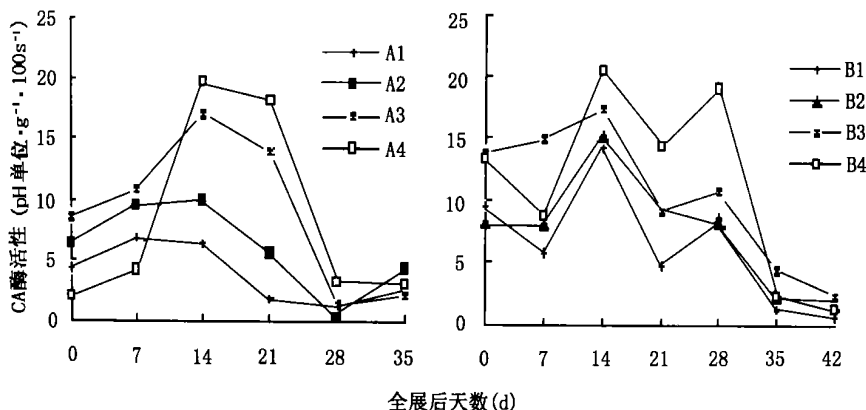


图 3 不同处理的倒三叶 CA 酶活性

2.3 锌对倒三叶 CA 活性的影响

倒三叶全展时正处在拔节期,它对小麦小穗小花分化影响较大。从整体趋势来看(图3),大部分处理全展后14 d CA 活性达最大值。其中8901-11趋势比较明显,而4185的CA活性分别在全展后7 d和21 d出现2次下降,并在全展后14 d的最大值基础上下降后,在28 d又提高,呈现双峰双谷的曲线。CA活性的这种变化趋势可能与环境和品种有关。因为有报道指出,光强增加和温度升高都能使CA活性提高^[16]。倒三叶全展后第7 d(04-20)气温与全展当天相当,但日照时数较少,且因多云光强较弱;第21 d(05-05)气温较低,日均温17.1℃,日照时数为0;第28 d(05-12)气温较温度高,日均温23.3℃,日照时数5.5 h,与第21 d相比有利于酶活性提高。8901-11没有出现这种明显的峰谷变化,可能是因其叶片功能期短,28 d时叶片已经发黄,酶活性等生理特性已不随环境条件而变化。另外,上述2个品种CA活性的差别也可能说明,不同品种的CA活性对环境条件的反应不同,8901-11受环境影响较小,而4185受环境影响较大。

不同处理之间CA活性的差异与旗叶和上部功能叶CA活性的差异有所不同。A3的CA活性一直高于A1和A2,A4在展开14 d之后也一直高于其他处理。4185的各个处理间,基本上也以施锌多的B4和B3处理高于B2和B1处理。总的看来,二品种倒三叶的CA活性都随着施锌量的增加而提高。

3 讨论

3.1 关于CA活性在春季生育期间的变化及其影响因素

2个品种在春季生育期间,顶部功能叶CA活性的变化趋势基本一致,即从起身期以后逐渐提高,到开花期达到最高值后快速下降,但在开花后10~20 d下降速度较慢。这种变化趋势一是与天气状况有关,在5月6~16日(开花后0~10 d)一直为多云天气,尤其是5月13~16日日照时数为0,气温也较低,而CA活性一般随光强减弱和温度降低而下降^[16]。另外禾谷类作物,刚开花后处于营养器官已全部建成,子粒灌浆尚未开始,光合产物需求相对较弱的时期,光合速率一般也有所降低^[17~20],因此与光合作用过程有关的CA活性下降也是必然的。而5月16~26日期间只有2 d多云,一般日照时数均在10 h以上,气温也较高,有利于酶活性提高。

同时正值灌浆盛期,对光和产物需求迫切,光合速率也较高^[17~20],当然也许要较高的CA活性。因此,开花后酶活性先是快速下降,而后下降速率趋缓甚至略有提高的现象,这是小麦生育阶段与生态条件影响的综合反映,是一种生态生理现象。

3.2 关于不同施锌水平CA活性的品种和叶位间差异与锌肥的合理施用

2个品种不同施锌量的旗叶和倒三叶的CA活性均有一定差异。8901-11各施锌处理(含ck)倒三叶刚展开时CA活性为2.01~8.5 pH单位·g⁻¹·100s⁻¹,同时期4185的CA活性为8.05~13.75 pH单位·g⁻¹·100s⁻¹,均高于旗叶刚展开时的酶活性(2品种范围分别为3.43~5.19和1.06~3.87 pH单位·g⁻¹·100s⁻¹)。但是,2品种旗叶CA活性最高值分别达55.81和62.61 pH单位·g⁻¹·100s⁻¹,远高于倒三叶的最高值(19.74和20.44 pH单位·g⁻¹·100s⁻¹)。这种情况可能与倒3叶展开后,很快被上部叶片遮荫,且处于CO₂浓度相对较高的层次^[21]有关。因为低光强和高CO₂浓度都使CA活性下降^[16,22]。

2个品种旗叶和倒三叶的CA活性变化趋势也有一定差异,8901-11叶片一生中CA活性的变化相对较小,而4185的变化范围较大,这种差异尤其在倒三叶中表现的更为明显。这说明,4185的CA活性对环境的反应比8901-11更为敏感。4185和8901-11分别属于中筋小麦和强筋小麦品种,其CA活性的差异是否与其品质特点有关,是否能代表同一类品种,还需要在更多品种中验证。

由于北方石灰性土壤的土壤有效锌不足,因此适当施锌有利于提高小麦叶片CA活性。从本研究结果看,生育期间顶部功能叶或旗叶的酶活性一般以处理2较高,处理4较低,处理3表现不稳定,而倒3叶则一般以处理3或处理4较高。综合2个叶位及春季各生育期的情况,以硫酸锌施用量在11.25~22.5 kg/hm²之间CA活性较高。当然,合理的施用量还应结合小麦的产量和品质性状确定。

参考文献:

- [1] Guliev N M, Bairamov S M, Aliev D A. Functional organization of carbonic anhydrase in higher plants[J]. Plant Physiol, 1992, 39: 537-544.
- [2] Jacobson B S, Fong F, Heath R L. Carbonic anhydrase of spinach[J]. Plant Physiol, 1975, 55: 468-474.

- [3] Pandey N, Sharma C P. Zinc deficiency effect on photosynthesis and transpiration in safflower and its reversal on making up the deficiency[J]. Indian J Exp Biol, 1989, 27: 376– 377.
- [4] Shiraiwa Y, Kiuyama M. Role of carbonic anhydrase and identification of the active species of inorganic carbon utilized for photosynthesis in *Chara corallina*[J]. Plant Cell Physiol, 1989, 30(4): 581– 587.
- [5] Swader J A, Jacobson B S. Acetazolamide inhibition of photo system in isolated spinach chloroplasts [J]. Photochemistry, 1972, (11): 65– 70.
- [6] Price G D, Caemmerer S, Evans J R, *et al.* Specific reduction of chloroplast carbonic anhydrase activity by anti-sense RNA in transgenic tobacco plants ahs a minor effect on photosynthetic CO₂ assimilation[J]. Planta, 1994, 193: 331– 340.
- [7] Randall P J, Bouma D. Zinc deficiency, carbonic anhydrase and photosynthesis in leaves of spinach[J]. Plant Physiol, 1973, 52: 229– 232.
- [8] Bird I F, Cornelius M J, Keys A J. Effect of carbonic anhydrase on the activity of ribulose biphosphate carboxylase[J]. J Experimental Botany, 1980, 31(121): 365– 369.
- [9] Rengel Z. Carbonic anhydrase activity in leaves of wheat genotypes differing in Zn efficiency[J]. J Plant Physiol, 1995, 147: 251– 256.
- [10] 王富芳, 李 路, 刘尚义, 等. 作物必须微量元素及其生理功能[J]. 作物杂志, 1994, (4): 34– 36.
- [11] Ohki K. Zinc concentration in soybean as related to growth, photosynthesis, and carbonic anhydrase activity[J]. Crop Sci, 1978, 18(1– 2): 79– 82.
- [12] Sasaki H, Hirse T, Watanabe Y, *et al.* Carbonic anhydrase activity and CO₂-transfer resistance in Zn-deficient rice leaves[J]. Plant Physiol, 1998, 118: 929– 934.
- [13] Pandey N, Sharma C P. Carbonic anhydrase activity and stomatal morphology associated with zinc deficiency – induced changes in FABA bean[J]. Phytomorphology, 2000, 50(3, 4): 261– 265.
- [14] 董文轩, 沈 隼, 孟繁静. 锌铜处理对苹果属植物叶内 CA 活性的影响[J]. 果树科学, 1995, 12(1): 10– 14.
- [15] 郭敏亮, 高煜珠, 王 忠. 用酸度剂测定植物碳酸酐酶活性[J]. 植物生理学通讯, 1988, (6): 59– 61.
- [16] Arakelyan V V, Ibragimova G B, Nasyrov Y S. Effects of light, CO₂, and temperature on carbonic anhydrase activity in C3-plants[J]. Rus J Plant Physiol, 1993, 40(6): 759– 761.
- [17] 王焕忠, 李雁鸣, 张建平, 等. 不同熟期小麦品种光合性能的初步研究[J]. 河北农业大学学报, 1998, 21(2): 1– 5.
- [18] 李雁鸣, 王焕忠, 段巍巍, 等. 冬小麦品种河农 859 和河农 326 的光合性能与子粒产量对水分的反应[J]. 河北农业大学学报, 2001, 24(1): 1– 4, 12.
- [19] 李雁鸣. 燕麦叶片光合性能的初步研究[J]. 北京农业大学学报, 1992, 18(增刊, 作物生理生态论文集): 161– 168.
- [20] 李雁鸣. 高粱生育期间光合性能的研究[J]. 北京农业大学学报, 1992, 18(增刊, 作物生理生态论文集): 169– 179.
- [21] 张 理, 江永和, 马秀玲, 等. 北京地区高产麦田内 CO₂ 浓度的分析[J]. 北京农业大学学报, 1982, 8(2): 37– 42.
- [22] Rawat M, Moroney J V. The regulation of carbonic anhydride and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity by light and CO₂ in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Plant Physiol, 1995, 109: 937– 944.