

甘蔗叶片细胞器中IAA氧化酶 活性及其与茎伸长的关系初探

周可涌 李杨瑞

(福建农学院)

提 要

在茎伸长盛期,甘蔗+1叶的叶绿体、线粒体和细胞溶质中都存在吲哚乙酸(IAA)氧化酶活性。IAA氧化酶的相对活性在细胞溶质、线粒体和叶绿体的比例为2:1:1,品种间无明显差异。但IAA氧化酶的比活性则以线粒体的最高,分别比叶绿体和细胞溶质的高1倍和2倍以上。

茎伸长较快的甘蔗品种,其+1叶各细胞器中的IAA氧化酶活性都较低,而相应地,其叶片中的IAA含量比较高。因此认为,甘蔗叶片中的IAA氧化酶活性和IAA含量可能为甘蔗育种提供可用的生化指标

甘蔗是以蔗茎为主要收获物的高产作物,因此,茎长是甘蔗产量的重要构成因素之一。蔗茎的伸长必须有各种无机和有机的营养作为基础,需要适宜的环境条件,而且,还受到体内多种激素的作用,IAA就是其中重要的一种〔1〕。它具有强烈的生理活性,可以促进细胞和器官的伸长生长〔2〕。

汤玉玮等(1947)〔7〕最先发现植物体内存在IAA氧化酶,把IAA转变为不活跃的物质〔2〕。此后,许多研究者对此发生了兴趣,利用多种植物材料进行研究〔3〕,认为IAA氧化酶的活性与植物的生长和衰老〔2〕以及植物组织培养中愈伤组织的生长〔3〕都有密切的关系。

我们设想,甘蔗茎的伸长与其中的IAA含量以及IAA氧化酶活性都可能密切的关系。但考虑到对蔗茎进行取样分析时要把整株砍下,而且IAA主要是由顶端旺盛生长组织(幼茎和嫩叶等)产生的〔2〕。甘蔗的+1叶(最高可见肥厚带叶)是刚刚长成的组织,用其作材料不仅取样方便,而且对整个蔗株的生长不致造成严重的影响。本研究的目的,就是期望能够弄清IAA氧化酶活性在甘蔗+1叶各个细胞器中的分布,进而研究各细胞器的IAA氧化酶活性与叶片IAA含量的关系,以及IAA氧化酶活性、IAA含量与蔗茎伸长的关系,为甘蔗育种提供可用的生化指标。

本文报道我们进行初步研究所取得的结果。

材 料 与 方 法

试验于1985年在福州市福建农学院甘蔗综合研究所进行。选用两个甘蔗品种作为试验材料:①闽糖70/611,是福建省70年代后期育成的甘蔗良种,伸长拔节较早且较快,早中熟、高糖、丰产;②Di52,是近年来从国外引进的甘蔗品种,伸长拔节特别早,特别快,株高和伸长速度超过闽糖70/611,早熟、高糖、丰产。蔗种砍成单芽种,2月

10日用塑料薄膜覆盖育苗, 5月1日当蔗苗长到3~4片真叶时移植于大田, 设单行区, 行长3米, 重复3次。种植规格及田间管理与一般大田生产相同。

于甘蔗伸长盛期(8月12日)取样。每小区选取3株有代表性的蔗株, 剪取+1叶带回实验室后迅速截取距肥厚带15~35厘米部分, 用湿纱布包住, 立即放入冰箱, 在-25℃下冰冻, 经过冰冻的甘蔗叶片去中脉, 剪碎, 混匀, 每个品种取样约6克。置于处在冰浴中的玻璃研钵内, 加入冰冷的提取介质(0.35M山梨醇, 0.05M Tris, 2mM EDTA, 2.5mM DTT, pH7.5)15毫升和石英砂少许, 研磨成匀浆后再加30毫升提取介质(共45毫升), 经四层纱布挤压过滤后, 按王以柔等的方法^[4], 在冷冻离心机中进行差速离心, 分别从滤液中取得叶绿体(1000Xg沉淀)、线粒体(11000Xg沉淀)和细胞溶质(11000Xg上清液)3部分。沉淀用2毫升提取介质悬浮后用涨破介质(除不加山梨醇外, 其余成份与提取介质相同)定容到10毫升, 置于冰箱中保存备用。

IAA氧化酶活性测定 参考前人所用的各种方法^[5、6], 加以修改。在冰浴中依次加入0.1毫升酶液、0.1毫升 10^{-3} M $MnCl_2$ 、0.2毫升 10^{-3} M IAA、0.6毫升0.02M H_3PO_4 缓冲液(pH6.0)到试管内, 置于30℃的水浴中, 作用30分钟后立即转入冰浴, 并加入4毫升Salkowski试剂^[5], 后按华东师范大学生物系植物生理教研组的方法^[6]进行。

叶片IAA含量测定 +1叶去中脉后的叶片2克用上述的涨破介质在冰浴中研磨提取后定容到20毫升。5500r.p.m冷冻离心15分钟, 取上清液, 每0.2毫升上清液加0.8毫升重蒸水, 再加4毫升Salkowski试剂, 以下步骤与测定IAA氧化酶活性相同。

蛋白质含量测定 以牛血清蛋白为标准蛋白质, 按Bradford(1976)的方法测定。

在本研究中, IAA氧化酶的相对活性是指各细胞器部分的酶活性占酶提取液总活性的百分比。此外, 分别于8月7日和29日在每小区取10株测量其主茎的株高, 求出平均值和蔗茎在8月份的平均伸长速度(厘米/旬)。

试验结果

一、IAA氧化酶在甘蔗+1叶细胞中的定位

研究结果表明, 甘蔗+1叶的叶绿体、线粒体和细胞溶质3部分都存在IAA氧化酶的活性。从IAA氧化酶的相对活性(表1)看, 以细胞溶质最高, 其次为线粒体和叶绿体, 3部分活性之比为2:1:1。这个比例在所研究的两个品种中差异不大。

表1 甘蔗+1叶IAA氧化酶的细胞内定位

| 细胞器 | 相对活性 % | |
|------|----------|-------|
| | 闽糖70/611 | Di52 |
| 细胞溶质 | 50.76 | 49.04 |
| 线粒体 | 24.49 | 26.08 |
| 叶绿体 | 24.75 | 24.88 |

二、甘蔗+1叶中IAA氧化酶的总活性以及IAA含量

在不同的甘蔗品种中, +1叶的IAA氧化酶的总活性有显著差异(表2)。Di52的IAA氧化酶的总活性比闽糖70/611低38.20%。与IAA氧化酶的活性表现相反, Di52的+1叶中的IAA含量比闽糖70/611高23.15%(表2)。由此推测, 较低的IAA氧化酶活性, 使+1叶中产生的IAA所受到的氧化破坏相对较少, 可能是Di52叶片中得以维持较高的IAA含量的重要原因。

表2 甘蔗+1叶的IAA含量和IAA氧化酶的总活性

| 品 种 | IAA含量 ($\mu\text{g/g}$ 鲜重) | 比 率 % | IAA氧化酶活性 ($\mu\text{gIAA}/\text{mg}$ 蛋白质·小时) | 比 率 % |
|-----------------|-----------------------------|----------------|---|--------|
| 闽糖70/611 | 130.91 ± 10.56 | 100.00 | 1414.3 ± 18.2 | 100.00 |
| Di52 | 161.21 ± 8.64 | 123.15 | 874.1 ± 7.5 | 68.80 |
| t测验: $p < 0.05$ | | t测验 $P < 0.01$ | | |

三、甘蔗+1叶各细胞器中IAA氧化酶的比活性

各细胞器中IAA氧化酶的比活性示于图1。从图1可以看出, 线粒体中的IAA氧化酶比活性最高, 比细胞溶质中的高2倍以上, 比叶绿体中的高1倍以上。这种趋势在两个品种中表现一致。从同一细胞器中的IAA氧化酶的比活性看, 不论在线粒体、叶绿体和细胞溶质中, 都是Di52显著地低于闽糖70/611, 与总活性的表现一致。

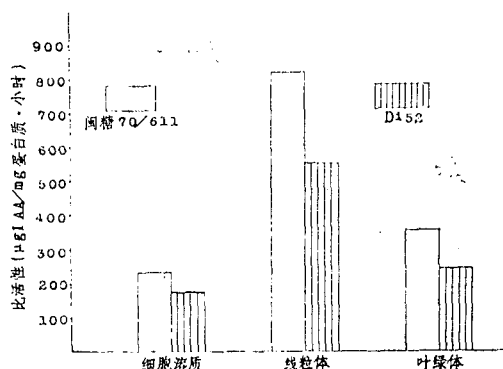


图1 甘蔗+1叶各细胞器中IAA氧化酶的比活性 t测验: $P < 0.01$

表3 两个品种的株高和伸长速度

| 品 种 | 株高 (cm) | | 平均伸长速度 (cm/旬) |
|----------|------------------|------------------|----------------|
| | 8月7日 | 8月29日 | |
| 闽糖70/611 | 148.0 ± 15.0 | 187.6 ± 16.0 | 18.0 ± 0.5 |
| Di52 | 173.0 ± 7.5 | 208.7 ± 7.5 | 19.2 ± 0.8 |

t测验: $p < 0.01$ 。

四、甘蔗的株高和伸长速度

无论是在8月7日还是在8月29日测定的株高, 都是Di52显著高于闽糖70/611。在8月份, 蔗茎的平均伸长速度也是Di52高于闽糖70/611, 二者之间的差异是极显著的(表3)。与前面所述的试验结果相比较, 甘蔗在伸长盛期的株高和茎伸长速度与+1叶的IAA含量(表2)相一致, 而与+1叶中IAA氧化酶的总活性(表2)以及各细胞器中的IAA氧化酶的比活性(图1)成负相关。

讨 论

通过试验可以看出, 甘蔗植株的伸长生长受到遗传基因的调控。主要作用可能是使得体内维持本品种伸长生长所需要的IAA含量。这种调控包括两个方面: 一是对IAA形成过程中的关键酶的活性的调控, 使得具有不同遗传基础的材料形成IAA的能力有差异; 二是通过对IAA氧化酶的活性的调控, 使不同的材料其体内氧化破坏IAA的速度不同。根据本研究得到的结果, 甘蔗+1叶的IAA氧化酶活性在两个品种中有显著的差异, 而且总比活性较低的品种, 其比活性与较高活性的品种的比活性的百分比的差值(38.20%), 高于其IAA含量相对提高的百分率(23.15%)。所以有理由推测, 较低的IAA氧化酶比活性对于维持体内适宜的IAA含量水平可能起着主导作用。同时, 生长较快的甘蔗品种的+1叶中各种细胞器都具有比较低的IAA氧化酶的比活性, 从而使叶片中维持了相对较高的IAA含量。如果是这样, 则+1叶的IAA氧化酶的比活性以及IAA含量有可能作为甘蔗育种的生化指标。

参 考 文 献

- [1] 南京农学院、江苏农学院主编, 1980, 作物栽培学(南方本), 下册, 上海科学技术出版社, 312~332。
- [2] 北京农业大学主编, 1980, 植物生理学, 农业出版社, 301~308。
- [3] 张静兰等, 1979, 吲哚乙酸、吲哚乙酸氧化酶和几种愈伤组织生长的关系, 植物生理学报, 5: 193~198。
- [4] 王以柔等, 1985, 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶的各细胞器中NAD⁺-苹果酸脱氢酶的影响, 植物生理学报, 11(2): 147~154。
- [5] F.H.魏海姆等, 1971, 中国科学院植物研究所生理生化研究室译, 1974, 植物生理学实验, 科学出版社, 217~221。
- [6] 华东师范大学生物系植物生理教研组, 1980, 植物生理学实验指导, 人民教育出版社, 184~191。
- [7] Tang, Y. W. and J. Bonner, 1947, The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. Biochem., 13: 11~25.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF IAA OXIDASE
IN VARIOUS ORGANELLES
OF LEAF AND THE ELONGATION OF STALK IN SUGARCANE

Zhou Keyong Li Yangrui

(Fujian Agricultural College,)

ABSTRACT

The activity of IAA oxidase in various organelles of sugarcane leaf has been studied at the vigorous elongation stage with two varieties, one elongating more rapidly than the another.

The proportion of the relative activity of IAA oxidase in cytosol, mitochondria and chloroplast was found to be 2 : 1 : 1, and no difference between the two varieties. The specific activity of IAA oxidase in mitochondria, however, was the highest, and it was 1 time higher than that in chloroplast, 2 times higher than that in cytosol respectively.

The activity of IAA oxidase of the variety that was elongating more rapidly was lower than the another in every organelle; correspondingly, the IAA content of leaf (leaf + 1) of the variety was remarkably higher. So the activity of IAA oxidase and IAA content of sugarcane leaf (leaf + 1) might be employed as a biochemical index of sugarcane breeding.