

## 低温胁迫对水稻幼苗PEP羧化酶的影响

何 洁 刘鸿先

(中国科学院华南植物研究所, 广州)

**摘 要** 水稻幼苗经低温(0℃)处理后, 叶片中 PEP 羧化酶活性明显地降低,  $K_m$ 值增大。经1—2天低温处理者, 增加反应底物的浓度, 有减少PEP羧化酶活性降低的幅度; 当低温伤害严重时(0℃4天), 这种效应则消失。这些结果表明: 水稻叶片中 PEP 羧化酶对低温反应是敏感的, 其活性的下降是由于该酶对底物的亲和力的降低。

**关键词** 低温胁迫; 水稻幼苗; PEP羧化酶

### 引 言

Brandurski和Greiner<sup>[2]</sup>1953年首先在 $C_3$ 植物(菠菜)发现了PEP羧化酶(EC4.1.1.31), 近年来, Raghavandra<sup>[7]</sup>发现了 $C_3$ 植物水稻嫩叶中有明显的PEP羧化酶活性。1983年Latzk和Kelly<sup>[5]</sup>在他们的综述中总结了 $C_3$ 植物PEP羧化酶的多种功能。其中最重要的功能是PEP羧化酶对三羧酸循环的运转起重要的调节作用, 尤其在低温逆境下<sup>[3]</sup>。然而, 目前在这方面的研究不多<sup>[3, 4, 5]</sup>, 有关水稻的报道更为少见。本文则以水稻幼苗为材料, 探讨在低温处理后PEP羧化酶活性,  $K_m$ (PEP)值的变化, 试图阐明在低温胁迫下, 植物代谢的不平衡与此酶变化的关系。

### 材 料 和 方 法

**植物材料** 水稻(*Oryza sativa* L.)品种IR<sub>2</sub>。经浸种出芽后播于蛭石上, 置于培养室中(温度28℃、光照5000Lx)培养二周, 移到低温(0℃)进行处理, 并以28℃处理为对照。全部试验均取完全展开的叶片用于分析。

**酶液制备:** 将5克叶片剪碎后, 加1:2倍w/v的提取介质(Tris-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 mol/L, 巯基乙醇 7 mmol/L, EDTA 1mmol/L, pH 8.0), 迅速捣碎。匀浆用四层纱布过滤。滤液在11000×g下离心20分钟, 上清液为粗酶液。以上操作在0—4℃下进行。

**酶活性测定** PEP羧化酶活性测定反应系统总体积为3 ml, 其中含有0.1 mol/L Tris-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 9.2缓冲液1 ml, MgCl<sub>2</sub> 10 nmol/L, NaHCO<sub>3</sub> 10 nmol/L, PEP 0.2 mmol/L, NADH 0.3 mg, 过量的苹果酸脱氢酶, 粗酶液100ul。反应从加入PEP开始, 测定340nm光吸收, 以 $\Delta OD = 0.01$ 作为一个酶单位, 酶活性以单位/mg蛋白质/min表示。

**蛋白质测定** 同前文(刘鸿先等1985)<sup>[1]</sup>

### 试 验 结 果

经低温(0℃)处理后, 水稻幼苗叶片PEP羧化酶活性有显著的降低(图1)。第一天为对照的86%, 第二天为63%, 第三天为37%, 第四天降到26%。然而, 对照水稻则无明显

显的变化。可见PEP羧化酶对低温是敏感的，低温胁迫下，它的变化是明显的。

根据 Michaelis-Menten 双倒数作图（即 Lineweaver BurRe 作图）表明（图 2）：对照水稻 PEP 羧化酶的表现  $K_m$  值为 0.12 mmol/L, 而 0℃ 处理一天后 PEP 表现  $K_m$  值增大为 0.18 mmol/L。

0℃ 低温处理一天后，PEP 羧化酶的表现  $K_m$  增大。因此，我们采用两种 PEP 浓度来测定低温处理后 PEP 羧化酶活性的变化。结果表明（图 3）：当把底物浓度从 0.2 mmol/L 提高到 0.4 mmol/L 时，低温处理第一、二、三天的 PEP 羧化酶活性降低的幅度有所减少。然而，到了低温处理的第四天时，这种增

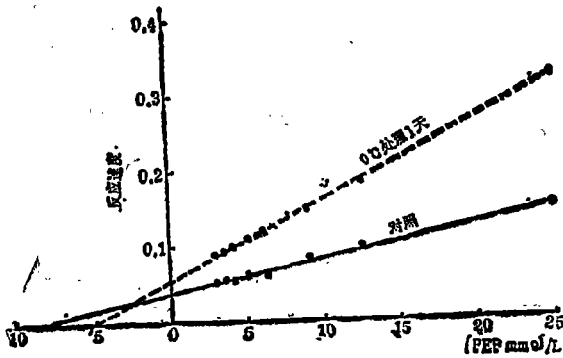


图 2 PEP羧化酶的Lineweaver-BurRe图

通过提高底物（PEP）浓度可提高低温处理过的水稻叶片中PEP羧化酶的活性。当伤害严重时（第四天，PEP羧化酶活性下降到26%），PEP羧化酶则对底物浓度无明显的反应。PEP羧化酶在低温胁迫下对PEP的反应及表现  $K_m$  值的增加均说明：水稻叶片中PEP羧化酶对低温反应敏感，活性的下降是由于此酶对基质（PEP）的亲力的降低。

Mastuso等<sup>[6]</sup>指出：植物体内 PEP 羧化酶对低温的敏感性可能与植物的抗冷性有关。Graham<sup>[3]</sup>提出一些热带C<sub>3</sub>植物在1.3—38.5℃ 的温度范围，PEP羧化酶的  $V_{max}$  的 Arrh-

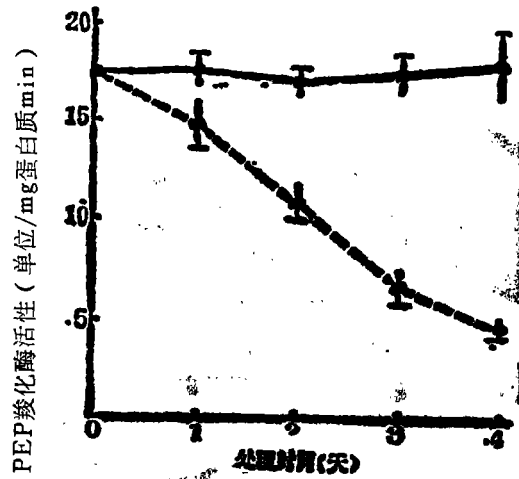


图 1 低温(0℃)处理期PEP羧化酶活性的变化 (PEP浓度为0.2 mmol/L)

加 PEP 浓度的效应则消失。

### 讨论

本试验结果说明：水稻幼苗经低温处理后，叶片中对三羧酸循环运转起调节作用的 PEP 羧化酶的活性明显降低。本试验还表明，在未产生严重伤害之前（第一、二、三天），

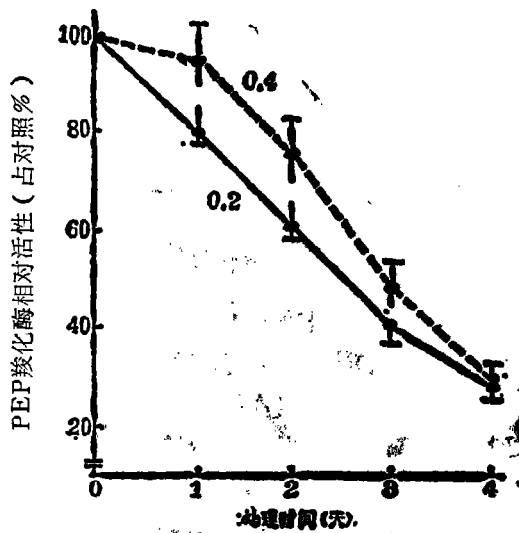


图 3 低温(0℃)处理后，增加PEP浓度 (mol/L)对PEP羧化酶活性的影响

enius图在10℃有一个折点。而起源于温带或高山地区的同一植物, 在1.3—38.5℃的温度范围, PEP羧化酶的 $V_{max}$ 的Arrheius图是直线的。我们发现起源于热带的水稻品种IR<sub>2</sub>对降温是敏感的<sup>[1]</sup>, 本试验发现低温处理后其PEP羧化酶活性的降低是明显的, PEP羧化酶活性的降低将会引起植物体内代谢的不平衡。因为作为合成途径, TCA循环的运转取决于C<sub>4</sub>酸的不断供应, 而C<sub>4</sub>酸主要是由PEP羧化酶产生的。

本文是中国科学院基金资助项目的组成部分

### 参 考 文 献

- [1] 刘鸿先等, 1985: 植物生理学报11(1): 48—57.
- [2] Banduraki R.S. and Greiner C.M., 1953: J. Biol. Chem., 204, 781—786.
- [3] Graham D. et al., 1979: In Lyons J.M. et al. (eds.), Low Temperature Stress in Crop Plant, P. 453—461, Academic Press, New York.
- [4] Graham D., et al., 1983: Report of research in. A Division of Food Research of CSIRO, Australia. P, 47—48,
- [5] Latzko, E. and Kelly G.J., 1983: Physiol. Veg., 21(5): 805—815.
- [6] Matsuo T. et al., 1985: Australia Society of Plant Physiologist. Twenty Fourth General Meeting. P.16.
- [7] Raghavendra A.S., 1977: New Phytol. 79:89—94.

## THE EFFECT OF CHILLING STRESS ON PEP-CARBOXYLASE IN RICE SEEDLING

He Jie and Liu Hong-xian

(South China Institute of Botany, Guangzhou)

**Abstract** After chilling treatment (0℃), the decrease of PEP-carboxylase activity in rice leaves was obvious with the increased  $K_m$  value. The postponement of the dip in PEP-carboxylase activity followed by the lift in the substrate concentration after 1—2 days chilling treatment, but no postponement after 4 days chilling treatment were found. These results showed that PEP-carboxylase in rice leaves was sensitive to chilling due to the decrease in affinity of the enzyme to the substrate.

**Key words** Chilling stress; Rice seedling; PEP-carboxylase