

# 施钼对不同钼效率冬小麦叶片呼吸作用 相关酶的影响

甘巧巧, 孙学成, 胡承孝\*, 谭启玲

(华中农业大学微量元素研究中心, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 以冬小麦钼高效(97003)和钼低效(97014)品种为供试材料,采用土培方法,研究施钼对冬小麦分蘖期、拔节期、孕穗期和灌浆期功能叶多酚氧化酶(PPO)、抗坏血酸氧化酶(AAO)、乙醇酸氧化酶(GO)等呼吸作用相关酶类活性变化的影响。结果表明,施钼后,PPO活性在4个生育期均降低;AAO活性在分蘖期和拔节期降低,而在孕穗期和灌浆期上升;GO活性则在分蘖期、拔节期和孕穗期降低,而在灌浆期升高。钼对不同钼效率冬小麦叶片呼吸作用酶的影响存在着差异。施钼有利于促进冬小麦分蘖期和拔节期碳水化合物的积累,从而促进生物量的提高,而在孕穗期和灌浆期由于植株生长中心的转移,呼吸作用酶变化复杂。

**关键词:** 钼; 多酚氧化酶; 抗坏血酸氧化酶; 乙醇酸氧化酶

中图分类号: S143.7<sup>+</sup>2; S512.1<sup>+</sup>1.01

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X (2007)01-0113-05

## Effects of molybdenum application on respiration enzymes in vigorous leaves of different Mo efficiency genotypic winter wheat

GAN Qiao-qiao, SUN Xue-cheng, HU Cheng-xiao\*, TAN Qi-ling

(Microelement Research Center, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Effects of molybdenum application on respiration enzymes: polyphenol oxidase (PPO), ascorbic acid oxidase (AAO), glycolic acid oxidase (GO) of vigorous leaves in winter wheat (Mo efficient cv. 97003 and Mo inefficient cv. 97014) were investigated at tillering stage, jointing stage, heading stage and filling stage. The results indicate that in Mo-treated winter wheat, the activity of PPO decreased in all the four stages; the activity of AAO decreased in the tillering stage and the jointing stage but increased in the heading stage and the filling stage; the activity of GO decreased in the tillering stage, the jointing stage and the heading stage but increased in the filling stage. Differences in responses of activity of molybdenum on respiration enzymes were observed in different molybdenum efficiency winter wheat. Molybdenum application inhibited respiration of winter wheat in the tillering and jointing stage, which was beneficial to carbohydrate accumulation and increased the biologic yield of winter wheat. In the heading and the filling stage, the effect of Mo application on respiration enzymes activity had a big variety. From the tillering stage to the heading stage, the activity of GO decreased when molybdenum was applied, indicating molybdenum application inhibited photorespiration of winter wheat. Therefore, it can increase net photosynthetic rate, and promote carbohydrate accumulation.

**Key words:** molybdenum, polyphenol oxidase (PPO), ascorbic acid oxidase (AAO), glycolic acid oxidase (GO)

钼是一种具有多种生物功能的微量元素。对于曾被认为对缺钼不敏感的禾本科植物—冬小麦,近

年来也发现钼对其生长发育起着重要的调节作用。施钼能克服冬小麦越冬期黄化死苗现象,促进冬小

收稿日期: 2005-09-05

修改稿收到日期: 2006-01-06

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划(NECT-04-0731)项目;教育部博士点基金项目资助。

作者简介: 甘巧巧(1980—),女,湖北房县人,硕士研究生,主要从事植物微量元素机理研究。Tel: 0512-57709265, E-mail: ganqq099@126.com

\* 通讯作者 Tel: 027-87282043, E-mail: hucx@mail.hzau.edu.cn

麦分蘖,使冬小麦成熟期提前2~3天<sup>[1]</sup>。喻敏等<sup>[2]</sup>对34个冬小麦品种试验结果表明,在缺钼土壤上施钼可提高各品种冬小麦的产量。光合作用是作物产量形成的基础,<sup>14</sup>C同位素示踪结果发现,缺钼使冬小麦<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>同化力下降,而施钼提高了<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>同化力并促进了碳同化产物向生长中心转移<sup>[3]</sup>。还有研究发现施钼可促进冬小麦碳同化产物可溶性总糖<sup>[4-5]</sup>和纤维素、半纤维素<sup>[6]</sup>含量的提高,这说明钼与碳代谢的关系极为密切。光合作用和呼吸作用均是植物碳代谢中的关键生理生化过程,光合作用是将吸收的CO<sub>2</sub>转化为有机物质的同化过程,而呼吸作用则是一个放能的异化过程。C<sub>3</sub>植物由于进行光呼吸,使净光合速率降低了25%~50%<sup>[7]</sup>。因此深入研究钼对植物光呼吸代谢及呼吸作用的影响,有利于从整体上理解钼在碳代谢中的生理功能,从而更好地解释施钼提高冬小麦产量并使成熟期提前原因。本研究以冬小麦钼高、低效品种为材料,通过研究施钼对冬小麦叶片呼吸作用相关酶活性的影响,拟从酶学的角度来解释钼与冬小麦呼吸作用及光呼吸的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

盆栽试验土壤采自湖北省新洲县张店乡丘陵的酸性黄棕壤,其基本理化性状为:pH 5.02,有机质17.8 g/kg,速效氮153.47 mg/kg,速效钾(K)121.03 mg/kg,速效磷(P)6.77 mg/kg,有效钼0.11 mg/kg。

试验采用聚乙烯塑料盆(33 cm × 12 cm),每盆装风干磨碎过筛的土样7.0 kg,肥底为每千克土施N 0.20 g, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0.15 g, K<sub>2</sub>O 0.20 g,以分析纯(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、KCl为肥源。同时每千克土施无Mo的Arnon微量元素营养液1 mL。供试的两个小麦品种为冬小麦钼高效品种(系)97003和钼低效品种(系)97014(种子由华中农业大学微量元素研究中心提供)<sup>[8]</sup>。设两个施Mo水平:0、0.15 mg/kg,共4个处理。钼以分析纯(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O为肥源,配制成溶液在播种前一次性施入。在拔节期和抽穗期各追施N 0.05 g/kg土。整个生育期内用去离子水浇灌,以玻璃钢瓦活动棚防雨水淋洗。试验于2004年11月11日播种。各处理均于分蘖期(出苗后53 d)、拔节期(出苗后104 d)、孕穗期(出苗后140 d)和灌浆期(出苗后157 d)取样,取冬小麦功能叶后立即放入液氮中快速冷冻,转入-20℃的冰箱保存,用于测定相应的生理指标。

### 1.2 测定项目与方法

多酚氧化酶(PPO)活性采用黄有凯<sup>[9]</sup>的方法测定。将20℃时吸光值每秒钟每升高0.001定义为1个PPO活性单位U,酶比活力以毫克蛋白计。抗坏血酸氧化酶(AAO)活性测定参照徐健容等<sup>[10]</sup>的方法略加改进:取鲜重为0.8 g左右的小麦叶片,加4 mL酶提取液(50 mmol/L PBS, pH 7.8),于冰浴中充分研磨匀浆,冰冻离心(10000 r/min, 1℃, 15 min),得上清酶液5 mL左右,供测定用。以0.5 mmol/L还原型抗坏血酸作为反应底物,常温下采用紫外分光光度计,连续记录265 nm吸收值的变化。室温下每秒钟氧化1 μmol AsA的酶量作为一个酶活性单位(U)。酶比活力以毫克蛋白计。乙醇酸氧化酶活性分析<sup>[11]</sup>:酶活力单位(U)为单位时间、单位酶液中所含的乙醇酸的纳摩尔数[nmol/(mL·min)]。酶比活力以毫克蛋白计。蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 施钼对不同钼效率冬小麦叶片多酚氧化酶(PPO)活性的影响

多酚氧化酶(PPO)是植物体中呼吸作用的氧化酶,能将底物酚的电子传递到分子氧,从而形成水或过氧化氢<sup>[12]</sup>。图1表明,施钼后不同钼效率的冬小麦叶片在分蘖期、拔节期、孕穗期、灌浆期的PPO活性均有所降低。对钼高效品种,分蘖期和孕穗期施钼处理与不施钼处理PPO活性差异不显著。在分蘖期、拔节期、孕穗期和灌浆期,高效品种施钼后PPO活性降低的幅度分别为6.67%、15.2%、10.5%和46.8%;而低效品种施钼后PPO活性降低的幅度分别为46.4%、69.4%、59.7%和62.3%。施钼后PPO活性降低的幅度高效品种小于低效品种,表明施钼对低效品种PPO活性抑制作用更强,可能使低效品种呼吸作用也受到较大的影响。

### 2.2 施钼对不同钼效率冬小麦叶片抗坏血酸氧化酶(AAO)活性的影响

AAO是植物体中普遍存在的一种含铜的氧化酶,存在于细胞质中,是植物呼吸作用的一种末端氧化酶,它通过将抗坏血酸氧化成脱氢抗坏血酸的过程,直接将呼吸链的电子传递给分子氧生成水<sup>[12]</sup>。由图2看出,施钼后不同钼效率的冬小麦叶片在分蘖期、拔节期的抗坏血酸氧化酶活性均有所降低,而在孕穗期和灌浆期则均有所增高,且变化的幅度在前三个生育期均达到了显著水平。在灌浆

期,高效品种施钼后 AAO 活性略有增高,但未达到显著水平;在分蘖期和拔节期,施钼后高效品种 AAO 活性降低的幅度分别为 34.2% 和 38.3%,低效品种 AAO 活性降低的幅度分别为 63.9% 和 55.5%。低效品种 AAO 活性下降的幅度高于高效品种,表明

分蘖期和拔节期时钼对低效品种的 AAO 活性影响作用更大。在孕穗期和灌浆期,高效品种 AAO 活性分别上升了 59.0% 和 14.0%,而低效品种则上升了 55.3% 和 25.2%。

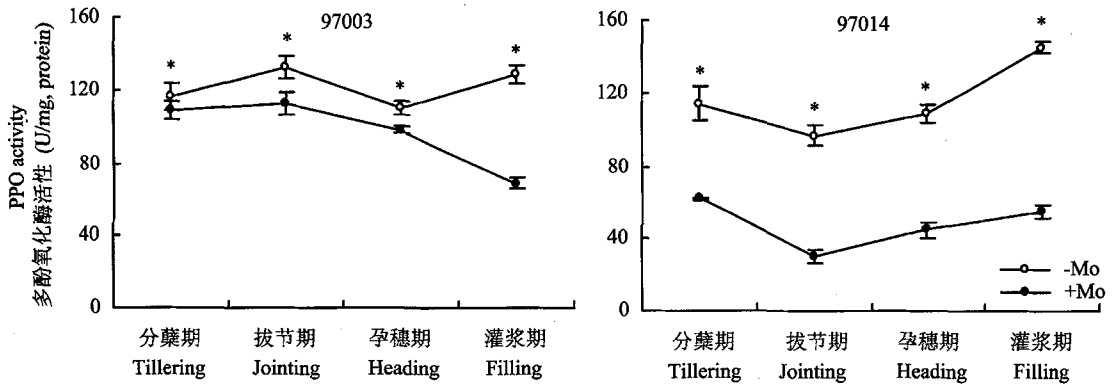


图 1 冬小麦不同品种功能叶多酚氧化酶动态变化

Fig.1 Dynamic change of PPO activity in vigorous leaves of winter wheat cultivars

[注(Note): \* 代表处理间差异达 5% 显著水平,下同 \* Indicate significance at 5% level between treatments, same as follows.]

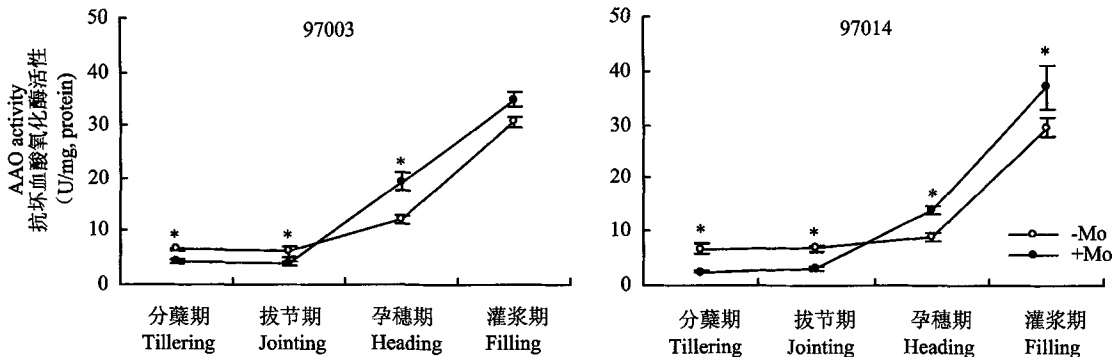


图 2 冬小麦不同品种功能叶抗坏血酸氧化酶的动态变化

Fig.2 Dynamic change of AAO activity in vigorous leaves of winter wheat cultivars

### 2.3 施钼对不同钼效率冬小麦叶片乙醇酸氧化酶(GO)活性的影响

GO 能把低物乙醇酸的电子传递到分子氧,同时也是植物光呼吸的关键酶<sup>[13]</sup>。图 3 可见,在冬小麦生长的分蘖期、拔节期和孕穗期,两个品种施钼后叶片乙醇酸氧化酶活性均有所下降,且在三个生育期中钼高效品种 97003 施钼后 GO 下降的幅度分别为 39.6%、40.7% 和 63.6%,而钼低效品种 97014 施钼后 GO 下降的幅度分别为 44.9%、23.9% 和 18.3%。在灌浆期,施钼后两品种叶片乙醇酸氧化酶活性则均有上升的趋势,97003 和 97014 上升的幅度分别为 30.5% 和 1.21%。钼对高效品种分蘖期叶片 GO 活

性影响略小于低效品种,而在后三个生育期中均明显大于低效品种。在前三个生育期,不施钼条件下,低效品种 GO 活性均低于高效品种,随着植株的衰老,到了灌浆期时,低效品种 GO 活性则高于高效品种。而无论施钼和不施钼,不同钼效率的冬小麦叶片乙醇酸氧化酶活性在前三个生长时期中均不断下降,而后在灌浆期中有所升高。

### 2.4 施钼对不同钼效率冬小麦株高及种子产量的影响

施钼显著提高了两个冬小麦品种的植株高度和种子产量,无论施钼与否,品种 97003 和 97014 之间株高差异不显著。品种 97003 种子产量的 + Mo/ - Mo 值

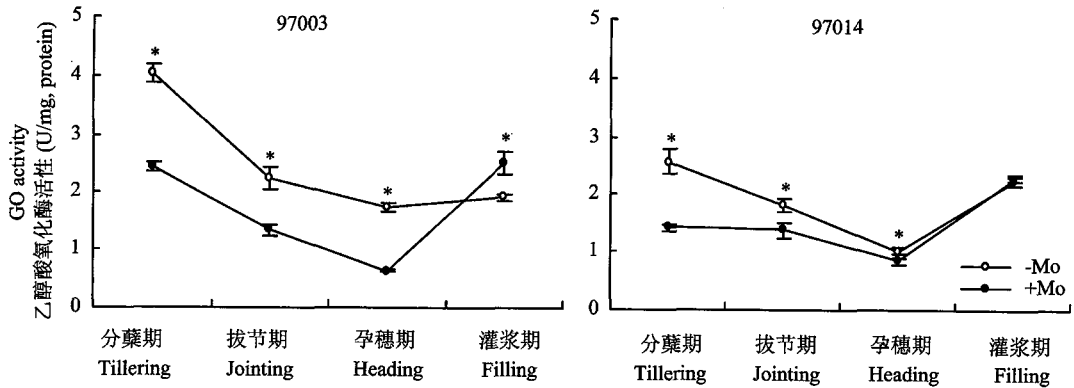


图3 冬小麦不同品种功能叶乙醇酸氧化酶活性的动态变化

Fig.3 Dynamic change of GO activity in vigorous leaves of winter wheat cultivars

为1.34, 品种97014种子产量的+Mo/-Mo值为2.50, +Mo/-Mo值为品种97014高于品种97003, 表明施钼更能提高低效品种97014的种子产量(表1)。

表1 施钼对两个品种冬小麦成熟期株高和种子产量的影响

Table 1 Effect of Mo on the height and grain yield of wheat cultivars at mature stage

品种 Cultivars	处理 Treatment	株高(cm) Height	种子产量(g/plant) Grain yield
97003	- Mo	52.1 b	3.46 c
	+ Mo	71.1 a	4.62 b
97014	- Mo	53.3 b	2.41 d
	+ Mo	72.0 a	6.00 a

注(Notes): 各列数字后不同字母表示在  $P < 0.05$  水平差异显著  
Different letters in column indicate significantly different at 0.05 level.

### 3 讨论

#### 3.1 钼对冬小麦呼吸作用酶的影响

多酚氧化酶(PPO)、抗坏血酸氧化酶(AAO)和乙醇酸氧化酶(GO)均为植物体内呼吸过程的氧化酶,能把底物的电子传递到分子氧,形成水或过氧化氢,适应不同的底物和不断变化的外界环境,保证植物正常的生命活动<sup>[12]</sup>。AAO活性的增加,有利于电子的传递,从而促进植株的呼吸作用。GO作为植物光呼吸的关键酶,其活性的高低直接影响着光呼吸过程的快慢<sup>[14]</sup>。从理论上讲,光呼吸的降低能提高植物特别是  $C_3$  植物的净光合速率<sup>[15]</sup>。施钼后,叶片PPO、AAO、GO在冬小麦发育的不同阶段变化趋势也不同。结合各生育期酶活性的变化情况可以看出,在以营养生长为主的阶段(分蘖期和拔节期),施钼后促进三种呼吸作用相关酶活性下降,有利于降

低叶片呼吸作用,减少碳同化产物的降解,从而促进各种碳水化合物在营养器官中的积累;而在进入以生殖生长为主的阶段(孕穗期和灌浆期)后,缺钼和施钼处理叶片中AAO和GO活性均相继进入上升阶段,但施钼处理叶片中AAO和GO活性上升速度更快(图2和图3),从而使施钼处理中的AAO和GO活性分别在孕穗期和灌浆期后高于缺钼处理。可以推测,此时AAO和GO活性的上升代表着叶片中的碳水化合物分解并向生长中心转移。施钼处理AAO和GO活性上升速度更快,说明施钼处理中叶片碳水化合物向生殖生长中心转移更顺畅,有利于生殖器官及子粒的建成和成熟期提前,施钼处理冬小麦子粒饱满和成熟期提前,<sup>14</sup>C同位素示踪试验也证明了施钼有利于库源关系的调节<sup>[3]</sup>。施钼处理叶片中PPO活性仍然低于缺钼处理,有利于减少叶片中的碳同化产物发生无效率的降解。施钼后叶片PPO、AAO和GO活性在各生育期变化趋势的不一致,也表明了施钼对植物呼吸代谢影响的复杂性。

#### 3.2 冬小麦钼高、低效品种呼吸作用相关酶活性变化的差异

施钼对钼高、低效品种冬小麦叶片中呼吸作用相关酶活性的影响也存在差异。本试验结果表明,施钼后,冬小麦叶片PPO活性降低的幅度在四个生育期中都是高效品种低于低效品种。这可能是由于缺钼逆境下,钼高效冬小麦品种能更多地吸收利用土壤中的钼,地上部钼含量和钼累积量均高于低效品种所致<sup>[16]</sup>。在不施钼的条件下,分蘖期、拔节期和孕穗期钼高效品种叶片中GO活性均高于低效品种,反映了在营养生长阶段和生殖生长前期,缺钼逆境对高效品种光呼吸抑制作用要大于低效品种,这有利于高效品种净光合速率的提高,进而累积更多

的碳同化产物。而在灌浆期,钼高效品种缺钼处理 GO 活性比施钼处理高 30%,而钼低效品种缺钼和施钼处理 GO 活性差异不显著,说明钼高效品种叶片中的碳同化产物在灌浆期更容易向子粒中转移,这可能也是钼高效品种在不施钼条件下从土壤中吸收和累积了更多的钼而引起的。缺钼逆境下,对同一生育期而言,钼高、低效品种叶片中 AAO 活性均相差不大。施钼后,在生育期相同时钼高、低效品种叶片中 AAO 活性也相差不大,除分蘖期外差异均未达显著水平,说明叶片 AAO 活性并不能表征不同冬小麦品种钼效率的基因型差异,也说明不同钼效率的冬小麦品种在生理生化过程上的差异具有复杂性,其机理有待进一步深入研究。

### 参 考 文 献:

- [1] 魏文学,谭启玲,许松林,等. 钼肥对冬小麦生长的影响研究[J]. 湖北农业科学,1996(1): 26-30.  
Wei W X, Tan Q L, Xu S L *et al.* Studies on effect of molybdenum to winter wheat growth[J]. Hubei Agric. Sci., 1996 (1): 26-30.
- [2] 喻敏,王运华,胡承孝. 种子钼对冬小麦硝酸还原酶活性、干物质重及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2000,6(2): 220-226.  
Yu M, Wang Y H, Hu C X. Influence of seed molybdenum on nitrate activity, shoot dry matter and grain yield of winter wheat cultivars [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2000, 6(2): 220-226.
- [3] 庞静. 钼对酸性黄棕壤上冬小麦碳代谢作用机理的研究[D]. 武汉:华中农业大学硕士学位论文,1998.  
Pang J. The mechanism of Mo effects on carbon metabolism of winter wheat in acid yellow brown earth[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University Master's Degree Paper, 1998.
- [4] 胡承孝,王运华,魏文学,陈浩. 黄棕壤有效钼水平对冬小麦产量结构及叶绿素、可溶性糖的影响[J]. 土壤肥料,1998 (1): 19-22.  
Hu C X, Wang Y H, Wei W X, Cheng H. Effects of Molybdenum in acid yellow brown earth on production construction and contents of chlorophyll, soluble sugar of winter wheat[J]. Soils Fert., 1998 (1): 19-22.
- [5] 孙学成,胡承孝,谭启玲,等. 施用钼肥对冬小麦游离氨基酸、可溶性蛋白质和糖含量的影响[J]. 华中农业大学学报,2002, 21(1): 40-43.  
Sun X C, Hu C X, Tan Q L *et al.* Effects of Molybdenum application on contents of free amino acid, soluble sugar and protein of winter wheat at different growth stages [J]. J. Huazhong Agric. Univ., 2002, 21(1): 40-43.
- [6] 庞静,胡承孝,王运华,魏文学. 钼对黄棕壤上冬小麦碳代谢的影响[J]. 华中农业大学学报,2001,20(1): 33-35.  
Pang J, Hu C X, Wang Y H, Wei W X. The mechanism of molybdenum effects on carbon metabolism of winter wheat in acid yellow brown earth [J]. J. Huazhong Agric. Univ., 2001, 20(1): 33-35.
- [7] 王炜军,彭新湘,李明启. 植物乙醇酸氧化酶研究进展[J]. 华南农业大学学报,1999,20(3): 117-122.  
Wang W J, Peng X X, Li M Q. Advances in the study of plant glycolate oxidase[J]. J. South China Agric. Univ., 1999, 20(3): 117-122.
- [8] 喻敏,胡承孝,王运华. 冬小麦缺钼反应的基因型筛选[J]. 华中农业大学学报,2003,22(4): 360-364.  
Yu M, Hu C X, Wang Y H. Response of different winter wheat cultivars to Mo deficiency[J]. J. Huazhong Agric. Univ., 2003, 22(4): 360-364.
- [9] 黄有凯,罗曼,蒋立科,李江遐. 哈茨木霉对水稻过氧化物酶及多酚氧化酶活性的影响[J]. 微生物学通报,2003,30(5): 1-4.  
Huang Y K, Luo M, Jiang L K, Li J X. Effects of trichoderma harziarum on polyphenol oxidase and peroxidase in rice[J]. Chin. J. Microbiol., 2003, 30(5): 1-4.
- [10] 徐健容,叶华智. 抗坏血酸氧化酶与小麦抗赤霉病关系的研究[J]. 四川农业大学学报,1998,16(3): 319-321.  
Xu J R, Ye H Z. Studies on the relationship between ascorbic acid oxidase and resistance of wheat to head blight [J]. J. Sichuan Agric. Univ., 1998, 16(3): 319-321.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.  
Li H S. Plant biochemistry principle and technique of experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [12] 潘瑞炽,董愚得. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2000.  
Pan R Z, Dong Y D. Plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [13] Esquivel M G, Ferreira R B, Teixeira A R. Protein degradation in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants with particular reference to ribulose biphosphate carboxylase and glycolate oxidase [J]. J. Exp. Bot., 1998, 49: 807-816.
- [14] 徐仰仓,王静. 小麦幼苗光呼吸与活性氧累积的关系[J]. 植物生理与分子生物学学报,2003,29(2): 92-96.  
Xu Y C, Wang J. The relation between photorespiration and active oxygen species accumulation in wheat seedlings [J]. J. Plant Physiol. Mol. Biol., 2003, 29(2): 92-96.
- [15] 徐杰. 乙醇酸氧化酶研究进展[J]. 华南师范大学学报(自然科学版),2002,3: 105-110.  
Xu J. Studies on properties and advances of glycolate oxidase [J]. J. South China Normal Univ. (Nat. Sci. Ed.), 2002, 3: 105-110.
- [16] 喻敏,胡承孝,王运华. 不同钼效率冬小麦品种钼的吸收和分配[J]. 中国农业科学,2004,37(11): 1749-1753.  
Yu M, Hu C X, Wang Y H. Molybdenum efficiency in winter wheat cultivars as related to molybdenum uptake and distribution [J]. Sci. Agric. Sin., 2004, 37(11): 1749-1753.