

吲哚乙酸对烟草叶片光合作用和光呼吸的影响*

肖振发** 李明启

(光合作用研究室)

提 要

烟草叶面喷施10~100ppm的IAA, 光合、光呼吸、CO₂补偿点、乙醇酸合成量、以及RuBP羧化酶/加氧酶和乙醇酸氧化酶活性均提高, 而且均随IAA浓度的增加而增高。抗生长素三碘苯甲酸抑制光合和光呼吸, 降低CO₂补偿点, 降低BuBP羧化酶和乙醇酸氧化酶活性。草甘膦亦降低光合、光呼吸强度和乙醇酸氧化酶活性。亚胺环己酮和放线菌素D亦降低叶片乙醇酸氧化酶活性, 并消除由IAA引起的酶活性增强。认为IAA通过提高RuBP羧化酶活性而增强光合作用; 通过增加乙醇酸合成和提高乙醇酸氧化酶活性而提高光呼吸。

关键词 吲哚乙酸; 光合作用; 光呼吸; 烟草

许多研究表明, 吲哚乙酸(IAA)能促进植物的光合作用^{[4][5][6][8][20]}, 但其机理一直没有定论。Bidwell等^[4]起先认为, 由代谢活跃的组织产生的IAA可作为整信号(sink signal)以调节光合作用; 他们观察到IAA能加速光合产物从叶片输出^[4]。但最近Bidwell指出, IAA对光合作用的效应, 不是由于加速运输而影响蔗糖浓度, 因为光合作用通常是不受叶片的碳水化合物含量影响的, 所以认为IAA的作用是在叶绿体水平上^[3]。Tamas等亦认为, 由于IAA能促进分离叶绿体的光合磷酸化和碳同化^[17], 所以IAA的作用位点是在叶绿体^[18]。他们报告, IAA作用于偶联机制而提高叶绿体的高能态^[18]。Tsenova也观察到, IAA能促进分离叶绿体的³²Po₄³⁻酯化^[19]。在碳代谢方面, Борзенкова和Мокроносков报告, IAA处理能促进BuBP羧化酶活性。所以看来IAA对光合作用的效应是多方面的。关于IAA对光呼吸的影响, 过去较少研究。Bidwell报告IAA以相同程度促进菜豆叶片的光合作用和光呼吸^[5]。但Vetter报告, IAA处理使玉米幼苗的乙醇酸氧化酶活性下降^[21]。

本文报告IAA处理对烟草叶片光合作用和光呼吸的影响, 并从碳代谢方面研究其作用机理。

* 中国科学院科学基金资助的课题

** 现工作单位: 广东汕头大学生物系

1986年6月26日收稿

材 料 和 方 法

烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 用 Hoagland 溶液单株盆栽砂培。于植株 16 叶龄期分别用不同浓度 IAA、三碘苯甲酸或草甘膦 (glyphosate) 溶液作整株喷施 (于下午 5 时左右进行), 以蒸馏水喷施作对照。44 小时后分别测定第十一、十二、十三片叶的光合、光呼吸强度、 CO_2 补偿点及有关酶活性。

用 FQ—W 型红外线 CO_2 分析仪测定光合、光呼吸强度、 CO_2 补偿点。以 2% 氧和正常大气 (含氧约 21%) 两种条件下净光合之差作为光呼吸强度。测定温度为 28°C ; 光强度为 $500\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ 。用 400 瓦日光色生物效应灯作光源。 ^{14}C 放射性强度用液体闪烁计数器测定。

乙醇酸氧化酶活性测定依 Servaites 等¹⁵ 的方法在 30°C 下进行。RuBP 羧化酶活性测定依 Kaufman 等¹⁰ 的方法。RuBP 加氧酶活性测定依 Andrews 等² 的方法。蛋白质含量的测定依 Lowry 等¹² 的方法。将乙醇酸氧化酶抑制剂 $\alpha\text{-HPMS}$ ($5\times 10^{-3}\text{mol/L}$) 溶液 10ml 与不同浓度的 IAA 溶液 10ml 混合, 真空渗入离体叶片, 照光 44 小时后依李锡涇等¹ 的方法测叶片乙醇酸含量。

将亚胺环己酮 ($10\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) 或放线菌素 D ($10\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) 分别与 IAA (100ppm) 溶液等量混合后, 真空渗入离体叶圆片, 照光 44 小时 ($500\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$), 然后测定乙醇酸氧化酶活性。

试 验 结 果

(一) IAA 处理后烟草叶片光合、光呼吸强度和 CO_2 补偿点的变化

图 1 表明, 用 100ppm IAA 处理烟草叶片后 4 小时开始, 光合强度比对照的增高, 从 8 小时至 36 小时, 光合强度几乎呈直线上升, 至 44 小时, 达最大值; 以后曲线趋于平缓, 至 76 小时, 光合强度保持在最大值附近

表 1 列出的数据表明, 用不同浓度 (10, 50, 100ppm) 的 IAA 处理的烟草叶片的光

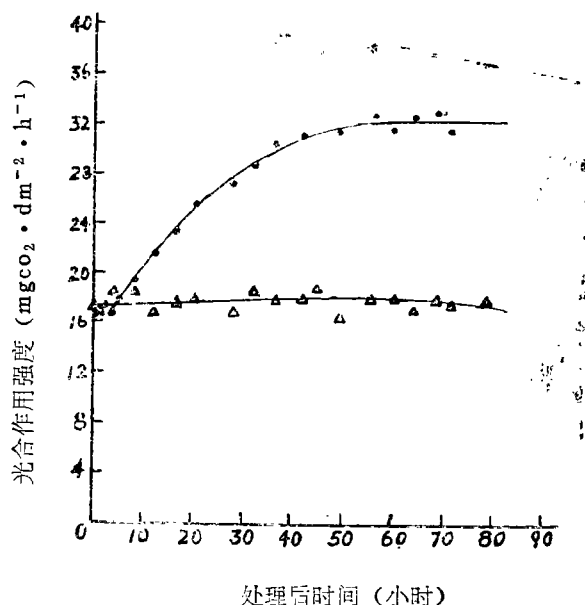


图 1 叶面喷施 100ppm IAA 后净光合强度随时间的变化 (—•— IAA 处理, $\triangle$ — $\triangle$ 对照)

合、光呼吸强度、 CO_2 补偿点均随IAA浓度的增高而增大。 CO_2 补偿点的增高与光呼吸强度的增加趋势一致。

(二) IAA对叶片 RuBP 羧化酶和加氧酶、乙醇酸氧化酶活性的影响

结果(表2)表明,在试验的IAA浓度(10, 50, 100ppm)范围内, RuBP羧化酶, RuBP加氧酶和乙醇酸氧化酶活性均随IAA浓度的提高而增强。但RuBP羧化酶和加氧酶活性的提高不如乙醇酸氧化酶显著, RuBP加氧酶活性的提高亦略高于RuBP羧化酶。

表3的结果表明,当乙醇酸氧化酶被抑制时,经IAA处理的烟草叶片乙醇酸含量明显地比对照增多,并且随IAA浓度的提高而增多。这结果与IAA提高RuBP加氧酶活性(表2)的结果相一致。

为要了解IAA是否直接影响乙醇酸氧化酶活性,我们测定了IAA对离体乙醇酸氧化酶活性的影响。结果(表4)表明,IAA对离体乙醇酸氧化酶活性无影响。说明IAA不是直接影响乙醇酸氧化酶活性的。

(三) 三碘苯甲酸和草甘磷对叶片光合、光呼吸强度, CO_2 补偿点, RuBP羧化酶和乙醇酸氧化酶活性的影响

三碘苯甲酸(TIBA)是一种抗生长素,它能阻抑生长素的极性运输^[9]。为进一步证明IAA对光合、光呼吸有促进作用,本试验采用不同浓度的TIBA处理16叶龄烟草植株,

表1 喷施IAA对烟草叶片光合、光呼吸强度和 CO_2 补偿点的影响

IAA浓度 (ppm)	0	10	50	100
光合强度 ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{hr}^{-1}$)	18.0 (100%)	22.2 (123%)	28.4 (158%)	30.3 (168%)
光呼吸强度 ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{hr}^{-1}$)	7.7 (100%)	9.8 (127%)	12.0 (156%)	13.1 (170%)
CO_2 补偿点 (ppm)	61.2	64.0	68.8	72.8

表2 喷施IAA对烟草叶片RuBP羧化酶/加氧酶和乙醇酸氧化酶活性的影响

IAA浓度 (ppm)	0	10	50	100
RuBP 羧化酶活性(脉冲数 mg^{-1} 蛋白质 $\cdot \text{分}^{-1}$)	1007 (100%)	1281 (127%)	1464 (145%)	1562 (155%)
RuBP 加氧酶活性($\mu\text{mole O}_2 \text{mg}^{-1}$ 蛋白质 $\cdot \text{分}^{-1}$)	0.104 (100%)	0.142 (137%)	0.165 (159%)	0.182 (175%)
乙醇酸氧化酶活性(mg 乙醇酸 $\cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白质 $\cdot \text{小时}^{-1}$)	0.76 (100%)	0.98 (129%)	1.42 (187%)	2.30 (303%)

表3 喷施IAA对烟草叶片乙醇酸合成的影响 (黑光44小时后测定)

处 理	H_2O	H_2O + HPMS	10ppm IAA + HPMS	50ppm IAA + HPMS	100ppm IAA + HPMS
乙醇酸合成量 (μg 乙醇酸 $\cdot \text{g}^{-1}$ 鲜重)	24.0	76.3	96.7	165.0	208.0

表4 IAA对离体乙醇酸氧化酶活性的影响

处 理	对 照 (+ H ₂ O)	+ 20ppm IAA	+ 100ppm IAA	+ 200ppm IAA
乙醇酸氧化 酶活性(mg 乙醇酸mg ⁻¹ 蛋白质·小 时 ⁻¹)	0.752	0.755	0.765	0.759

观察叶片光合、光呼吸和有关酶活性的变化。结果(表5)表明,叶片光合、光呼吸强度,CO₂补偿点均随施用TIBA浓度的增加而下降;TIBA处理亦降低叶片的RuBP羧化酶,乙醇酸氧化酶活性,其降低程度均随TIBA浓度增加而增大。这些变化与光合、光呼吸强度随TIBA浓度增加而降低的变化趋势相一致。

草甘膦(glyphosate)能降低烟草愈伤组织的游离IAA水平,因而抑制愈伤组织的生长^[11]。本试验用不同浓度草甘膦处理烟草植株,以观察细胞内游离IAA水平的降低对光合、光呼吸的影响。试验结果(表6)表明,烟草叶片的光合强度、光呼吸强度和乙醇酸氧化酶活性均随草甘膦浓度的提高而降低。

(四) 亚胺环己酮或放线菌素D和IAA共同处理对烟草叶片乙醇酸氧化酶活性的影响

亚胺环己酮是蛋白质合成抑制剂^[14],放线菌素D是RNA合成抑制剂^[16]。为探索IAA提高乙醇酸氧化酶活性的原因,用亚胺环己酮或放线菌素D和IAA共同处理,以观察烟草叶片乙醇酸氧化酶活性的变化。结果(表7)表明50ppm IAA处理显著提高了叶片乙醇酸氧化酶活性,亚胺

表5 三碘苯甲酸(TIBA)处理对烟草叶片光合、光呼吸强度、CO₂补偿点、RuBP羧化酶和乙醇酸氧化酶补偿点活性的影响

TIBA 浓度 (ppm)	0	100	150	200
光合强度 (mg CO ₂ · dm ⁻² ·hr ⁻¹)	16.3 (100%)	11.5 (71%)	8.5 (52%)	4.2 (26%)
光呼吸强度 (mg CO ₂ · dm ⁻² ·hr ⁻¹)	7.6 (100%)	5.1 (67%)	3.3 (43%)	2.2 (29%)
CO ₂ 补偿点 (ppm)	63.2	53.0	39.5	37.0
RuBP羧化 酶活性(脉冲 数·mg ⁻¹ 蛋 白质·分 ⁻¹)	1114 (100%)	917 (82%)	630 (57%)	365 (33%)
乙醇酸氧化 酶活性(mg 乙醇酸· mg ⁻¹ 蛋白质· 小时 ⁻¹)	0.84 (100%)	0.67 (80%)	0.43 (51%)	0.33 (39%)

表6 草甘膦处理对烟草叶片光合、光呼吸强度和乙醇酸氧化酶活性的影响

草甘膦浓度 (μmol/L)	0	10	100	1000
光合强度 (mgCO ₂ · dm ⁻² ·hr ⁻¹)	16.5 (100%)	14.2 (86%)	13.6 (82%)	8.8 (53%)
光呼吸强度 (mg CO ₂ · dm ⁻² ·hr ⁻¹)	8.0 (100%)	6.7 (84%)	5.0 (63%)	4.0 (50%)
乙醇酸氧化 酶活性(mg 乙醇酸· mg ⁻¹ 蛋白质· 小时 ⁻¹)	0.73 (100%)	0.52 (71%)	0.45 (62%)	0.24 (33%)

环己酮处理降低其活性。当将IAA与亚胺环己酮一起渗入叶片时,乙醇酸氧化酶活性低于对照的,与单独用亚胺环己酮处理的相似,表明亚胺环己酮能抑制IAA引起的乙醇酸氧化酶活性的提高。将放线菌素D与IAA一起渗入叶圆片,亦降低乙醇酸氧化酶活性,与单用放线菌素D处理的相似,表明转录抑制剂亦能抑制IAA引起的乙醇酸氧化酶活性的提高。

表7 真空渗入亚胺环己酮、放线菌素D和IAA对烟草叶圆片乙醇酸氧化活性的影响(照光44小时后测定)

处 理	IAA H ₂ O (50ppm)	亚胺环己酮 (5μg·ml ⁻¹)	IAA (50ppm) + 亚胺环己酮 (5μg·ml ⁻¹)	放线菌素D (5μg·ml ⁻¹)	IAA (50ppm) + 放线菌素D (5μg·ml ⁻¹)
乙醇酸氧化 酶活性(mg乙 醛酸·mg ⁻¹ 乙 蛋白·小 时 ⁻¹)	0.81	1.68	0.62	0.67	0.72
					0.77

讨 论

过去的一些研究^{[4][5][6][8][20]}和我们的结果(图1、表1)均一致表明,IAA提高了多种植物的光合强度。Bidwell和Turner用IAA(10~20mg·l⁻¹)喷施于菜豆、小麦、大豆、向日葵等多种植物,在0.5~1小时内,观察到叶片同化CO₂量显著增加。但我们的实验结果表明,IAA对烟草叶片光合作用的影响要经约4小时以上才明显表现出来。这可能是不同植物叶片的表面和内部结构差异使IAA渗入速度不同所致。

不同研究者报告对光合作用起促进作用的IAA浓度相差很大,Bidwell等^{[4][5][20]}和Chatterjee^[8]报告在10~20mg·l⁻¹范围内均促进多种植物的光合作用。Борзенкова和Мокрыосов报告25mg·l⁻¹ IAA促进马铃薯叶绿体的光合作用。Tamas等报告对菠菜、燕麦、豌豆的叶绿体光合和光合磷酸化起促进作用的IAA浓度是10⁻⁷mol/L(0.0175mg·l⁻¹),浓度为10⁻⁹mol/L时即促进解偶联^[17,18] Buggeln和Bal^[7]用10⁻³mol/L(175mg·l⁻¹)的IAA抑制 *Alaria esculenta*(一种海藻)的光合作用。我们用10~100ppm IAA均能促进烟草叶片的光合作用。除了因所用植物种类不同,以及用叶片喷施或叶绿体处理的差异外,是否尚有其他原因,尚不清楚。

Tamas等^[17]和Tsenova^[19]认为,IAA通过增强叶片光合电子传递与ATP合成间的偶联而加速光合磷酸化,从而促进光合作用。而Turner和Bidwell^[20]发现IAA只是在光强接近饱和时才明显提高光合强度;在低光强下,IAA使叶片CO₂同化率提高甚微,因而认为IAA不是通过作用于光化学反应过程而提高光合作用,推测IAA可能通过作用

于暗反应中的某些限速步骤而提高光合强度。我们的试验结果(表2)表明, IAA明显提高RuBP羧化酶活性。与光合强度随IAA水平提高而增强(表1)的趋势一致。RuBP羧化酶活性与光合强度呈显著的正相关^[3]。我们认为IAA提高烟草叶片光合强度是由于IAA提高了RuBP羧化酶活性的原故。

关于IAA对光呼吸的影响问题, Bidwell等^[5]报告, IAA($15\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)处理的菜豆叶片在光下吸收 CO_2 和光呼吸放出 CO_2 均增大, 光合、光呼吸受促进的程度相同, 因而叶片 CO_2 净交换无变化。从本试验的结果(表1)来看, 在试验的IAA浓度范围内, 光合强度、光呼吸强度和 CO_2 补偿点均随IAA水平的提高而增大。

用TIBA和草甘膦处理烟草叶片以使IAA的运输受阻, 或游离IAA水平降低时, 烟草叶片的光合、光呼吸强度、RuBP羧化酶及乙醇酸氧化酶活性均下降(表5、6), 说明光合、光呼吸过程与组织内的IAA含量水平有关。IAA通过提高叶片RuBP羧化酶活性而促进光合作用, IAA亦可通过加速光呼吸底物乙醇酸的形成, 以及提高乙醇酸氧化酶活性而促进光呼吸。用亚胺环己酮及放线菌素D处理的结果(表7)表明, IAA可能是通过作用于DNA转录和RNA的翻译而提高乙醇酸氧化酶水平, 与这二种抑制剂能抑制IAA引起燕麦胚芽鞘的延长^[6]相类似。

我们认为, IAA作为一种植物激素, 除调节植物的生长外, 对植物的光合、光呼吸代谢过程亦有深刻的影响, 这是值得深入探究的。

引 用 文 献

- [1] 李锡涇、徐典朋、姜伟、李新蓝、张照荣、刘书礼、牛玉仙: 用生化方法研究不同品种的光呼吸, 《北京大学学报》(自然科学版) 1977(2): 76—83.
- [2] Andrews, T.J., G. H. Lorimer and N. E. Tolbert, 1973: Ribulose diphosphate oxygenase. I. Synthesis of phosphoglycolate by fraction I protein of leaves. *Biochem.*, 12(1): 11—18.
- [3] Bidwell, R. G. S., 1983: Carbon nutrition of plants: Photosynthesis and respiration. In "Plant Physiology, A Treatises" (F. C. Steward and R. G. S. Bidwell, eds.) Academic Press, New York, Vol. VII, pp. 287—457.
- [4] Bidwell, R. G. S. and W. B. Turner, 1966: Effect of growth regulators on CO_2 assimilation in leaves, and its correlation with the bud break response in photosynthesis. *Plant Physiol.*, 41: 267—270.
- [5] Bidwell, R. G. S., W. B. Levin and I. A. Tamas, 1968: The effect of auxin on photosynthesis and respiration. In "Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances" (F. Wightman, ed.), Runge Press, Ottawa, pp. 361—376.
- [6] Bucrek, J., 1969: Effect of inhibition of RNA and protein synthesis on IAA (indoleacetic acid)- and EDTA-induced elongation of isolated tissues, *J. Exp. Bot.*, 20: 52—55.

- [7] Buggeln, R. G. and A. K. Bal, 1977: Effects of auxins and chemically related non-auxins on photosynthesis and chloroplast ultrastructure in *Alaria esculenta* (Laminariales). Can. J. Bot., 55: 2098—2105.
- [8] Chatterjee, A. et al. 1976: Effect of growth substances on productivity, photosynthesis and translocation of rice varieties. Indian J. Plant Physiol., 19: 131—138.
- [9] Christie, A. E. and A. C. Leopold, 1965: On the manner of triiodo-benzoic acid inhibition of auxin transport. Plant Cell Physiol., 6: 337—345.
- [10] Kaufman, P. B., J. Labavitch, A. Anderson-Prouty, and N. S. Ghosheh (eds.), 1975: Laboratory Experiments in Plant Physiology, MacMillan Pub. Co., Inc., New York, pp. 45-52.
- [11] Lee, T. T., 1982: Mode of action of glyphosate in relation to metabolism of indole-3-acetic acid. Physiol. Plant., 54(3): 289-294.
- [12] Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, 1951: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- [13] Neales, T. F. et al., 1971: A relationship between net photosynthesis, diffusive resistance, and carboxylating enzyme activity in bean leaves. In "Photosynthesis and Photorespiration" (M. D. Hatch, C. B. Osmond, and R. O. Slatyer, eds.) Wiley-Intersciences, New York, pp. 89-96.
- [14] Pestka, S., 1974: The use of inhibitors in studies of protein synthesis. In "Methods in Enzymology" (K. Moldave and L. Grossman, eds.) Academic Press, New York, Vol. 30, Part F, pp. 261-282.
- [15] Servaites, J. C., L. E. Schrader and G. E. Edwards, 1978: Glycolate synthesis in a C_3 , C_4 and intermediate photosynthetic plant type. Plant Cell Physiol., 19(8): 1399-1405.
- [16] Sung, Shan-ching, 1972: Inhibitors of RNA and DNA biosynthesis. In "Metabolic Inhibitors" (R. M. Hochster et al. eds.) Academic Press, New York, Vol. III, Chap. 6, Part A, pp. 175-204.
- [17] Tamas, I. A., B. D. Atkins, S. M. Ware, and R. G. S. Bidwell, 1972: Indoleacetic acid stimulation of phosphorylation and bicarbonate fixation by chloroplast preparations in light. Can. J. Bot., 50: 1523-1527.
- [18] Tamas, I. A., J. W. Schwartz, B. J. Breithaupt, J. M. Hagin, and P. H. Arnold, 1974: Effect of indoleacetic acid on photosynthetic reactions in isolated chloroplasts. In "Plant Growth Substances, 1973, Proc. 8th Int. Conf. Plant Growth Substances", Hirokawa Pub. Co., Inc., Tokyo, pp. 1157-1168.
- [19] Tsenova, M., 1977: Effect of indole acetic acid on the photosynthetic activity of isolated chloroplasts. Fiziol. Rast. (Sofia), 3(2): 26-32. (Chem. Abst. 89: 3349u)

- [20] Turner, W. B. and R. G. S. Bidwell, 1965: Rates of photosynthesis in attached and detached bean leaves and the effect of spraying with indole acetic acid solution. *Plant Physiol.*, 40: 446—451.
- [21] Vetter, J., 1974: Effect of auxin on growth parameters in maize seedlings. *Bot. Közlem.*, 61 (4): 243—249.

EFFECTS OF INDOLEACETIC ACID ON PHOTOSYNTHESIS AND PHOTORESPIRATION IN TOBACCO LEAVES*

Xiao Zhenfa**

Li Ming-qi

(Laboratory of Photosynthesis Research, Department
of Agricultural Biology)

ABSTRACT

Tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) were grown in sand culture with Hoagland's nutrient solution. The effects of spraying with different concentrations of indoleacetic acid (IAA) on photosynthesis and photorespiration in tobacco leaves were investigated. The experimental results were as following. The net photosynthetic rate of tobacco leaves began to increase at 4 hours after spraying with 100 ppm IAA. Afterward, the net photosynthetic rate increased gradually and reached the maximum at 44 hours and remained at about the same level up to 76 hours, the maximum net photosynthetic rate was 83% higher than that of the control.

The rate of photosynthesis and photorespiration increased with increasing concentrations (10, 50, 100ppm) of IAA. IAA also raised the CO₂ compensation point of tobacco leaves.

IAA spraying accelerated the activities of RuBP carboxylase, RuBP oxygenase and glycolate oxidase. The degree of acceleration in the activity of RuBP oxygenase was higher than that of RuBP carboxylase in leaves treated with different concentrations (10, 50, 100ppm) of IAA. IAA (10, 50, 100ppm) significantly increased the synthesis of glycolic acid by tobacco leaves. The content of glycolic acid in leaves infiltrated with HPMS to inhibit the activity of glycolate oxidase increased with increasing concentrations of IAA.

2,3,5-Triiodobenzoic acid decreased the rates of photosynthesis and photorespiration, CO₂ compensation point, as well as the activities of RuBP carboxylase and glycolate oxidase in tobacco leaves. Glyphosate also decreased the

rates of photosynthesis and photorespiration and activity of glycolate oxidase. Cycloheximide and actinomycin D decreased the activity of glycolate oxidase in tobacco leaves and eliminated the promotion effect of IAA on glycolate oxidase.

According to these results it was suggested that IAA promoted photosynthesis by increasing the activity of RuBP carboxylase. The effect of IAA on photorespiration had two aspects, one was to provide more glycolic acid for the glycolate pathway by stimulating the reaction of RuBP oxygenase, the other was to increase the activity of glycolate oxidase and then, to promote photorespiration.

Key words, Indoleacetic acid, photosynthesis, photorespiration, tobacco

- Project supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences
- • Present address, Department of Biology, Shantou University, Shantou, Guangdong Province, People's Republic of China.