

糜子叶片衰老与活性氧代谢研究

代惠萍, 冯佰利, 高金锋, 高小丽, 王鹏科, 柴 岩

(西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 以榆糜 3 号为试验材料, 研究糜子叶片衰老与活性氧代谢特性。结果表明, 随着植株衰老, 不同叶位超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等保护性酶活性呈由高到低的变化趋势, 旗叶活性氧保护酶含量高且下降缓慢, 丙二醛含量低且增长缓慢, 在籽粒灌浆中后期表现更为明显。研究认为, 在旱作农业生产中, 延缓叶片衰老, 对促进糜子籽粒充实, 提高糜子产量和品质具有重要作用。

关键词: 糜子; 叶片衰老; 活性氧代谢

中图分类号: S516.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2008)01-0217-04

糜子 (*Panicum miliaceum* L.) 属禾本科黍属 (*Panicum miliaceum*), 具有生育期短、耐旱、耐贫瘠、耐盐碱等特性。由于我国糜子科研起步较晚, 生产管理粗放, 单产水平普遍较低, 探索糜子生育特性, 提高产量和品质成为糜子生产亟待解决的问题。

研究表明, 植株叶片衰老不仅表现为叶绿素及可溶性蛋白质降解, 而且还伴随着活性氧代谢的失调^[1~4]。活性氧伤害是引起植物叶片衰老的原因之一, 植物可通过多种途径产生活性氧, 同时细胞内也存在清除这些活性氧的多种途径^[5], 其中起主要作用的是活性氧清除酶系统^[6]。超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 等是活性氧清除酶系统的重要保护酶, 能有效地阻止体内活性氧, 如超氧阴离子自由基 (O_2^-), 过氧化氢 (H_2O_2)、羟基自由基 ($\cdot OH$)、单线态氧 (1O_2) 等的增加, 防止膜脂过氧化作用, 延缓植物衰老, 使植物维持正常的生长和发育^[7]。在植物衰老过程中, 活性氧积累对植物产生伤害的一个重要机制是直接或间接启动膜脂的过氧化作用, 导致膜的损伤和破坏, 引起膜脂过氧化产物丙二醛 (MDA) 的增加, 叶绿素降解和光合酶活性下降, 植物光合能力下降^[7~10]。

目前有关糜子植株生长发育过程中叶片衰老特性研究尚少见报道, 本试验研究了糜子生育期间叶片衰老及活性氧代谢规律, 旨在为糜子优质栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2007 年 5~9 月在西北农林科技大学农作试验站进行。该站位于黄土高原南部半湿润易旱区 ($108^\circ E, 34^\circ N$), 海拔 520 m, 年平均降水量为 660 mm, 主要集中在 7~9 月, 为暖温带半湿润气候。试验地土壤为壤土, 前茬休闲^[11]。试验采用土柱法, 先将土按照 0~20、20~40、40~60、60~100 cm 层次各堆在一起。取高 100 cm、直径 20 cm 的 PVC 管, 直立放到预先挖好的土坑中, 依次将对应土层的土回填至 PVC 管中夯实。试验品种选用陕西主栽糜子品种榆糜 3 号, 5 月 11 日播种, 三叶期定苗。其它田间管理按照国家糜子品种区域试验进行。

1.2 测定项目及方法

取生长基本一致且无病虫害的糜子主茎挂牌标记, 分别从拔节期开始, 每隔 10 d 取样一次。于上午 8:00 取样, 分叶位进行取样测定。选取具有代表性的标记植株主茎顶五叶各 5 片, 洗净叶片表面的尘土和污物并用吸水纸小心擦干, 去除叶脉, 混匀, 分叶位测定各项指标, 重复 3 次。

1.2.1 叶绿素含量 采用丙酮浸提法, 用 UV-2102 分光光度计进行比色测定, 按 Inskeep 法^[12~14] 计算其含量。

1.2.2 超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Peroxidase, POD)、过氧化物 (Catalase, CAT) 活性测定 取鲜样 0.500 g 剪碎,

收稿日期: 2007-04-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA100201); 陕西省攻关项目 (2006K01-G17-01); 西北农林科技大学植物遗传育种专项 (OSYZ017-1) 资助

作者简介: 代惠萍 (1972-), 女, 陕西武功人, 硕士研究生, 主要从事作物高产生态生理研究。E-mail: daihp72@yahoo.com.cn。

通讯作者: 冯佰利 (1966-), 男, 陕西耀县人, 教授, 博士生导师, 主要从事作物高产生态生理技术及小杂粮栽培、育种研究。E-mail: 7012766@163.com。

置预冷研钵中,加含 1%PVP 的 50 mmol/L 冷磷酸缓冲液(pH7.8)10 mL 及少量石英砂,在冰浴中研磨提取,匀浆于 2℃ 20 000×g 冷冻离心 20 min,上清液即为酶提取液。用此酶液参照 Giannopolitis 等^[15]和王爱国等^[12]改进法测定超氧化物歧化酶活性,以 Beers 和 Sizars 改进法^[11,16]测定过氧化氢酶活性,用 Sigma 法^[16]测定过氧化物酶活性。

1.2.3 丙二醛(Malondialdehyde, MAD)含量 采用硫代巴比妥酸(TBA)法稍作改进^[15]。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel、DPS 和 origin7.5 统计软件进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同叶位叶绿素含量变化

叶绿素含量高低是反映叶片光合性能和衰老程度的重要标志。图 1 结果表明,各性状不同时期差异均达到显著或极显著水平,旗叶>倒二叶>倒三叶>倒四叶>倒五叶。同一时期不同叶位间比较,叶绿素含量在拔节期最高,随着植株成熟期的接近,糜子叶片叶绿素含量趋于减少。

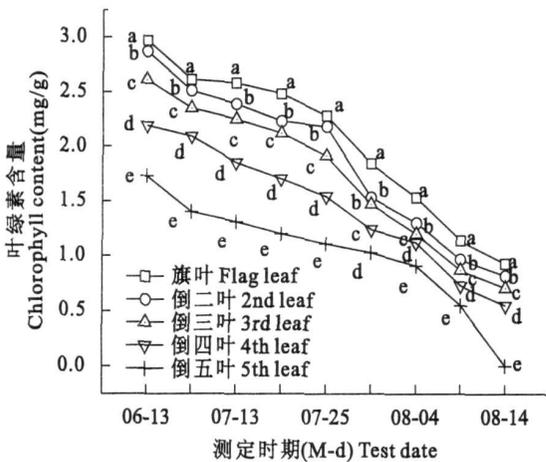


图 1 不同叶片叶绿素含量的变化

Fig.1 Changes of chlorophyll content among different leaves

2.2 不同叶位超氧化物歧化酶(SOD)活性变化

图 2 可知,不同叶位间超氧化物歧化酶活性变化呈由低到高再降低趋势,不同叶位间超氧化物歧化酶活性存在明显的差异,旗叶>倒二叶>倒三叶>倒四叶>倒五叶。旗叶活性高,酶活性下降缓慢,籽粒灌浆中后期表现更为明显。

2.3 不同叶位过氧化氢酶(CAT)活性变化

过氧化氢酶作为生物防御活性氧毒害的关键性保护酶之一,对于维持叶片活力、抗御早衰具有重要意义。图 3 表明,糜子生育期内旗叶过氧化氢酶活

性变化呈由低到高再降低趋势,其籽粒灌浆中后期旗叶过氧化氢酶活性降速较慢。不同叶位间过氧化氢酶活性存在显著差异。

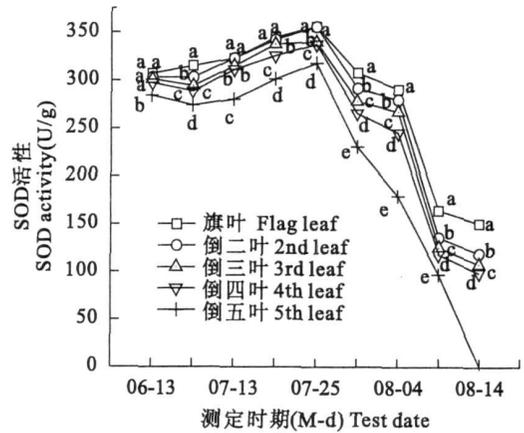


图 2 不同叶片 SOD 活性的变化

Fig.2 Changes of SOD activity among different leaves

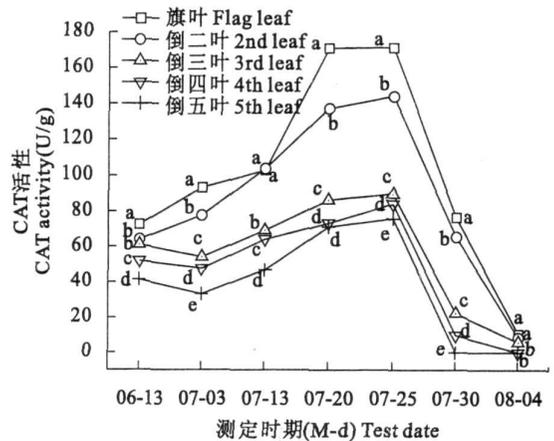


图 3 不同叶片 CAT 活性的变化

Fig.3 Changes of CAT activity among different leaves

2.4 不同叶位过氧化物酶(POD)活性变化

植物受逆境胁迫的不同时期,所起的作用可能有所不同^[9],图 4 可知,不同叶位过氧化物酶活性变化呈先升后降趋势,且不同叶位间存在较大差异,籽粒灌浆中期表现更为明显。

2.5 不同叶位丙二醛(MDA)含量变化

丙二醛是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量可表示细胞膜系统结构和功能受伤的程度^[8]。图 3 表明,随生育进程的推进,叶片丙二醛含量缓慢上升,在籽粒灌浆中后期,不同叶位间丙二醛含量变化差异较大。不同叶位相比较,旗叶<倒二叶<倒三叶<倒四叶<倒五,旗叶与倒二叶丙二醛含量积累速度较慢,其含量相对偏低,表明旗叶与倒二叶膜脂过氧化程度低,细胞膜系统结构和功能受伤害的程度轻,植株生长代谢旺盛。

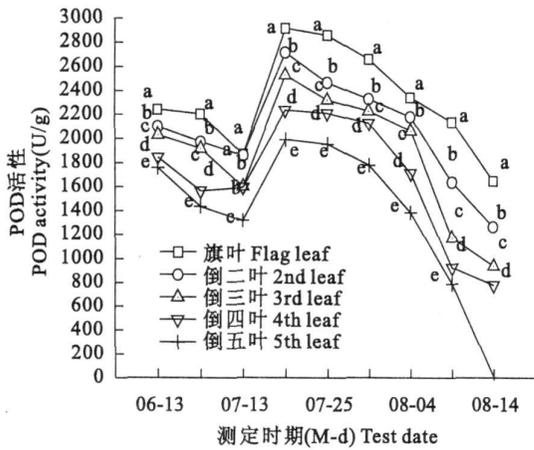


图4 不同叶片POD活性的变化

Fig. 4 Changes of POD activity among different leaves

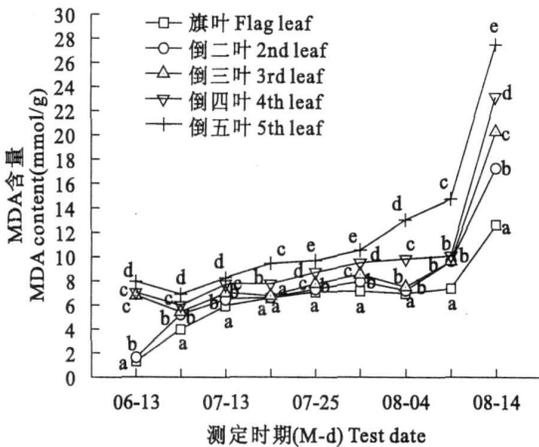


图5 不同叶片MDA含量变化

Fig. 5 Changes of MDA content among different leaves

3 讨论

大量研究表明,植物衰老进程是活性氧代谢失调的过程,即体内活性氧如超氧化物阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基($\cdot OH$)、单线态氧(1O_2)等的产量增加,活性氧的清除剂(如SOD、CAT、POD)、维生素E、维生素C和胡萝卜素等含量或活性水平下降,活性氧的产生与清除动态平衡受到破坏,而出现活性氧积累,导致膜脂过氧化(MDA)加剧,致使植物组织衰老死亡^[8~10,17,18]。本研究表明,生育后期叶片生理功能的衰退对植株光合碳同化能力乃至产量具有重要影响。从拔节期开始,糜子不同叶位叶绿素含量变化呈先升后降趋势,籽粒灌浆后期旗叶叶绿素降解速度较慢。旗叶

超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等保护性酶活性高降幅小,籽粒灌浆中后期各酶活性较高,丙二醛含量低且增长缓慢。因此,在糜子栽培和育种中,选择叶片功能期长,衰老缓慢的品种,同时采用适当的栽培技术来调控叶片衰老进程,促进籽粒的充实,从而提高糜子产量和品质。

参考文献:

- [1] 冯佰利,赵琳.干旱条件下冷型小麦的生理特性分析[J].西北农林科技大学学报,2002,(2):38-42.
- [2] 冯佰利,高小丽.干旱条件下不同温型小麦叶片衰老与活性氧代谢特性的研究[J].中国生态农业学报,2005,13(4):74-76.
- [3] Muchow R C, D S Carberry. Environmental control of phenedligny and leaf growth in a tropically aspected maize [J]. Field Crop Research, 1989, 20:221-236.
- [4] 陈学留,张建华.玉米根系生长与叶片衰老的相关观察[J].莱阳农学院学报,1994,11(1):17-20.
- [5] Kaiser W M. The effect of hydrogen peroxide on CO_2 fixation of isolated intact chloroplasts [J]. Biochem Biophys Acta, 1976, 400:476-482.
- [6] 段咏新,李松泉,傅家瑞.钙对延缓杂交水稻叶片衰老的作用机理[J].杂交水稻,1997,12(6):23-25.
- [7] 杨淑慎,高俊凤.高等植物叶片的衰老[J].西北植物学报,2001,21(6):1271-1277.
- [8] 高小丽,高金锋.不同绿豆品种生育后期叶片衰老的研究[J].西北植物学报,2007,27(5):947-953.
- [9] 鱼欢,冯佰利.不同栽培模式下冬小麦叶片衰老与活性氧代谢研究[J].作物学报,2007,33(10):1729-1732.
- [10] 冯佰利,高小丽.干旱条件下小麦冠层温度及其性状的关联研究[J].生态学杂志,2005,24(5):508-512.
- [11] 施特尔马赫.酶的测定方法[M].北京:中国轻工业出版社,1992.186-194.
- [12] 王爱国,罗广华,邵从本.大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J].植物生理学报,1983,9(1):77-83.
- [13] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:陕西科学技术出版社,2000.101-103.
- [14] 苏正淑,张宪政.几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J].植物生理学通讯,1989,(5):77-78.
- [15] Giannoplitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants [J]. Plant Physiol, 1977, 59:309-314.
- [16] 钱嘉译.酶的测定方法[M].北京:中国轻工业出版社,1992.
- [17] Walter L. 翟志席译.植物生态生理学[M].北京:中国农业大学出版社,1997.
- [18] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts; 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Arch Biochem Biophys, 1968, 125:189-198.
- [19] 冯佰利,张宾.抗旱小麦的冷温特征及其生理特性分析[J].作物学报,2004,12:1215-1219.

Senescence and activate oxygen metabolism of leaf in *Panicum miliaceum* L.

DAI Hui-ping, FENG Bai-li, GAO Jin-feng, GAO Xiao-li, WANG Peng-ke, CHAI Yan
(College of Agriculture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: This research aims to study *Panicum miliaceum* L. leaves activity and the aging characteristics of oxygen metabolism by using Yu-Mi 3 and the pot method. The results showed that SOD, CAT, POD activities of different leaves rose and then declined with plant ageing, the content of active oxygen protective enzyme of flag leaf was high and declined slowly, and the content of MDA was low and rose gradually. These changes were significant in the middle and late stage of grain filling. The results showed, in the rain-fed agriculture, slowing leaves ageing is vital important to promote grain filling and increase jield and qallty of *Panicum miliaceum* L.

Key words: *Panicum miliaceum* L.; leaf senescence; activate oxygen metabolism

(上接第 208 页)

Effects of water stress on water potential and proline metabolism in leaves of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) at early growth stage

HUANG Cheng-mei^{1,2}, YANG Li-tao², JIANG Wen^{2,3}, BI Li-ming², LI Yang-rui^{1,2}

(1. Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007; 2. Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005;

3. Biotechnology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: Three sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties, 'Guitang119', 'ROC16' and 'ROC22', were used as experimental materials. The plants were treated with polyethylene glycol (PEG) 6000 at the early growth stage. Effects of water stress on water potential, proline content, activities of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P⁵CS), ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT) and proline dehydrogenase (ProDH) of leaves were studied. The results showed that, under the stress treatment, leaf water potential of three varieties decreased. And free proline content of 'ROC16' increased 1 d after the starting of treatment, 'GT119' also increased 2 d after the starting of treatment, while there was no difference between treatment and control for the variety 'ROC22' during 12 d. The same results for the activity of P⁵CS were obtained after the stress treatment, the activity of 'GT119' and 'ROC16' increased after treatment, but 'ROC22' was contrary. For the activities of δ -OAT, there was no remarkable difference between the treatment and control. The proline dehydrogenase (ProDH) activity of 'GT119' and 'ROC16' increased at first then decreased after 7 d, 'ROC22' increased 7 d after the starting of treatment.

Key words: *Saccharum officinarum* L.; polyethylene glycol (PEG) stress; water potential; proline metabolism