

干旱条件下糜子叶片衰老与保护酶活性变化

张盼盼¹, 冯佰利¹, 王鹏科¹, 高小丽¹, 拓菊梅², 柴岩¹, 宋慧¹

(1. 西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省榆林市原种场, 陕西 榆林 719000)

摘 要: 在干旱棚栽培条件下以宁糜 13 号、内糜 5 号和晋糜 4 号糜子品种为材料, 观测分析不同品种花后叶片叶绿素含量、保护酶活性(SOD、CAT、POD)以及丙二醛含量变化。结果表明, 参试品种各功能叶片叶绿素含量及 SOD、CAT、POD 活性均在开花 14 d 后逐渐下降, MDA 含量随着叶片的衰老而升高; 参试品种叶片衰老的总体变化趋势一致, 但衰老进程存在差异。与内糜 5 号和晋糜 4 号相比, 宁糜 13 号叶绿素下降幅度小, 各功能叶片衰老过程中 SOD、CAT 活性下降较慢, POD 活性下降较快, MDA 含量增加幅度小, 叶片功能期长, 衰老缓慢, 有利于光合产物的积累; 干旱条件下, 叶绿素含量、过氧化氢酶 CAT、超氧化物歧化酶 SOD 与单株产量呈正相关, 而过氧化物酶 POD、丙二醛 MDA 与单株产量呈负相关。

关键词: 糜子; 叶片衰老; 干旱; 保护酶活性

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2010)02-0099-05

糜子 (*Panicum miliaceum* L.) 抗旱耐瘠薄, 是干旱半干旱地区重要的粮食作物, 在西部种植业结构调整和产业发展中具有不可替代的作用^[1]。糜子营养丰富, 是现代功能型食品开发的重要原料。探索糜子植株抗旱特性, 提高糜子产量和品质, 对增进糜子产区农民收入, 维护国家粮食区域平衡具有重要的战略意义。

植物衰老是一个高度复杂的生理生化过程^[2]。在自然条件下, 衰老过程对植物的生态适应、自然选择和内部生理机制的恢复等都有积极意义^[3]。干旱等逆境条件会引起植株早衰, 从而造成减产^[4]。叶片衰老首先表现为叶绿素的降解^[6-8]和光合酶活性下降, 植物光合能力下降。干旱条件下植物体内代谢失调, 细胞内产生过剩的活性氧自由基, 如 O_2^- 、 H_2O_2 、 $^-\cdot OH$ 、 1O_2 , 引发或加剧膜脂过氧化, 从而造成细胞膜系统损伤, 使其膜透性增高, 加速衰老^[9,10]。因此, 一般认为活性氧代谢失调是造成叶片衰老的主要原因, 而清除活性氧能力大小的主要指标是酶促防御系统保护酶活性的高低^[11,12]。丙二醛 (MDA) 是膜脂氧化的主要最终产物, 其反映膜脂氧化的程度, 在衰老的过程中不断积累^[13]。近年来, 关于干旱条件下植物叶片衰老与保护酶系统活性的研究在小麦^[4,14]、水稻^[15]、玉米^[16]、大豆^[17]等作物中报道较多, 研究指出, 干旱条件可以降低保护

酶活性, 使得活性氧不能被及时清除, 对细胞及组织造成伤害, 最终导致叶片衰老死亡。关于干旱条件下糜子花后叶片衰老的研究尚未见详细报道。本试验以不同的糜子品种为材料, 对其花后叶片在干旱条件下叶绿素含量、保护酶 (SOD、CAT、POD)、丙二醛 (MDA) 等指标变化及其与籽粒产量的关系进行了分析比较, 旨在为糜子抗旱品种选育和高产优质栽培提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

试验于 2008 年在西北农林科技大学农作一站干旱棚进行。试验材料选用宁糜 13 号、内糜 5 号和晋糜 4 号。于 6 月 19 日开沟带尺点播, 小区面积 $10.0 m^2$ ($2.0 m \times 5.0 m$), 3 次重复。播种前对每个小区灌水, 播种后 1 d 测得土壤含水量 (w/w) 为 19%, 三叶期间定苗, 整个生育期内无自然降水和人工灌水, 开花期测得土壤含水量 (w/w) 为 16%, 而满足糜子正常生长的土壤含水量 (w/w) 是 20%, 其它田间管理按照国家糜子品种区域试验要求进行。

1.2 测定项目及方法

始花期选择同一天开花、生长一致且无病虫害的糜子主茎, 挂牌标记, 并分别从花后第 7 d 开始, 每隔 6 d 取样一次。于上午 8:00 分叶位取样, 所取样品及时放于冰壶中带回实验室, 洗净叶片表面的

收稿日期: 2009-10-19

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA100201); 西北农林科技大学唐仲英育种基金 (NO. 50)

作者简介: 张盼盼 (1985—), 女, 陕西渭南人, 硕士研究生, 主要从事作物栽培生理研究。E-mail: zpp35@163.com。

通讯作者: 冯佰利 (1966—), 男, 陕西耀县人, 博士, 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。

尘土和污物并用吸水纸擦干,去除叶脉,混匀,测定各项指标,重复 3 次。

1.2.1 叶绿素含量测定 分叶位将叶片剪碎混匀,准确称取 0.08 g 剪碎的样品,置于 20 mL 的具塞刻度试管中,用 80% 的丙酮浸提法测定^[18],用 Inskeep^[19]法计算叶绿素含量。

1.2.2 酶液制取 取糜子不同生育期的叶片,去除中脉后剪碎,取 0.500 g 剪碎的样品,置于预冷的研钵中,加入 8 mL 冷磷酸缓冲液(pH7.8)及少量石英砂,在冰浴中研磨提取,匀浆于 2℃,20 000 r/min 冷冻离心 20 min,上清液即为酶提取液,于 4℃ 冰箱中保存备用。

1.2.3 保护酶活性测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照王爱国等^[20]的改进方法,过氧化氢酶

(CAT)活性测定采用 Beers 和 Sizors^[21]改进法,过氧化物酶(POD)活性测定采用 Sigma 法^[21]。

1.2.4 丙二醛含量测定 参照高俊凤的硫代巴比妥酸法测定^[22]。

2 结果与分析

2.1 叶片叶绿素含量变化

图 1 表明,干旱条件下,随着生育期的推进,不同品种糜子开花后各功能叶片叶绿素含量均呈下降趋势,均在花后 28 d 以前下降迅速,28 d 后趋于稳定,且同一测定时期叶绿素含量表现为:旗叶 > 倒二叶 > 倒三叶。同一叶位,不同糜子品种间比较,叶绿素含量表现为宁糜 13 号 > 内糜 5 号 > 晋糜 4 号。

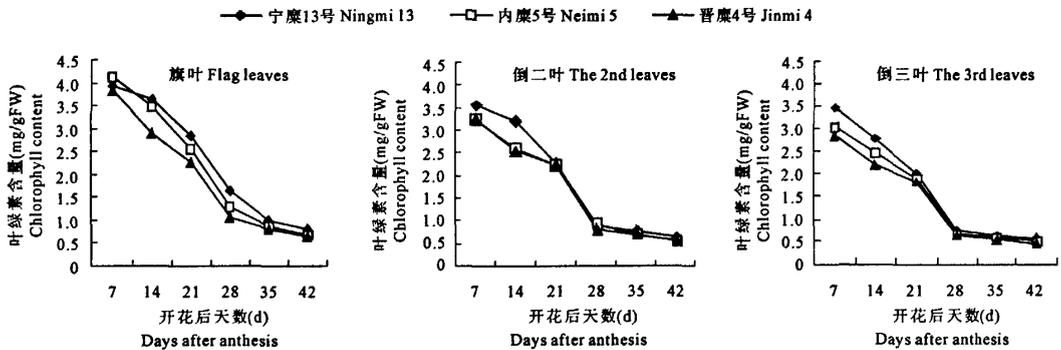


图 1 不同品种糜子叶片叶绿素含量变化

Fig.1 Change of chlorophyll content of the leaves of different *P-miliaceum* L. varieties

2.2 保护酶活性变化

2.2.1 叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性变化 由图 2 可知,干旱条件下糜子各功能叶片 SOD 的活性在开花后 7~14 d 上升较快,随后迅速下降。不同叶位叶片 SOD 活性表现为:旗叶 > 倒二叶 > 倒三

叶;品种间晋糜 4 号各叶片 SOD 活性低于宁糜 13 号和内糜 5 号,且下降幅度较大,表明晋糜 4 号各叶片对超氧阴离子自由基(O₂⁻)的清除能力较弱,抗衰老能力较弱。

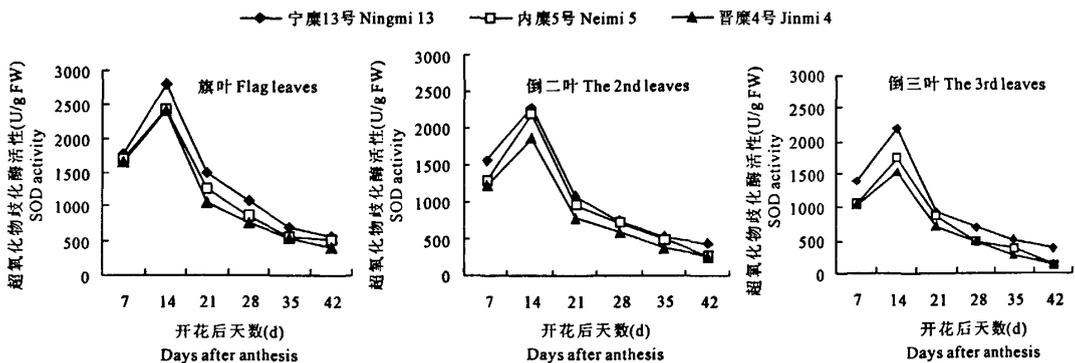


图 2 不同品种糜子叶片超氧化物歧化酶活性变化

Fig.2 Change of SOD activity of the leaves of different *P-miliaceum* L. varieties

2.2.2 叶片过氧化氢酶(CAT)活性变化 图 3 可以看出,干旱条件下糜子各功能叶片 CAT 活性变化趋势基本一致,随着糜子成熟期的接近,均呈先上升后下降的趋势,花后 14 d 达最大值,之后迅速降低。不同叶位叶片 CAT 活性相比较为:旗叶 > 倒二叶 >

倒三叶;与内糜 5 号和晋糜 4 号相比,宁糜 13 号各叶片的 CAT 活性均明显较高,且变化平缓,在花后 29 d 仍能保持相对较高的活性,表明宁糜 13 号叶片中 CAT 可有效消除 H₂O₂ 的过度积累,减缓膜脂过氧化作用和衰老进程。

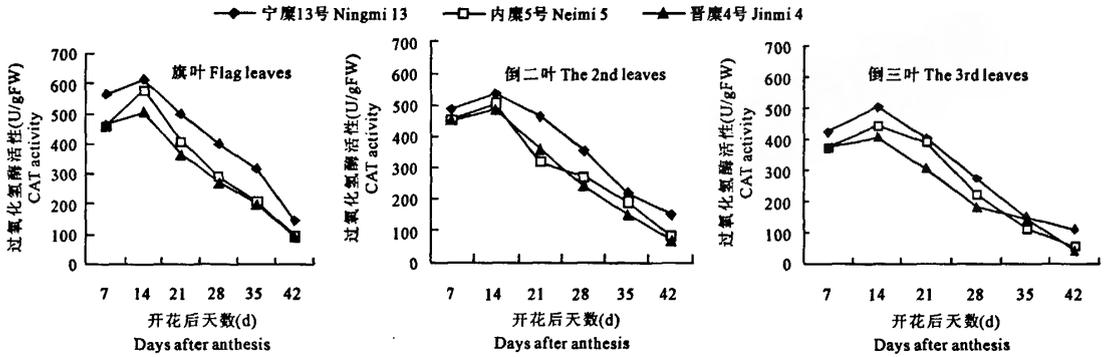


图 3 不同品种糜子叶片过氧化氢酶活性变化

Fig.3 Change of CAT activity of the leaves of different *P-miliaceum* L. varieties

2.2.3 叶片过氧化物酶(POD)活性变化 由图 4 可知,干旱条件下,参试糜子各功能叶片 POD 活性在开花 14 d 以后均呈下降趋势,且花后 14~35 d 下降平缓,35 d 以后下降剧烈,叶片到达枯黄期,POD 活性也降到最低值,不同叶位 POD 活性表现为:旗叶 > 倒二叶 > 倒三叶;各品种间相比较,整个开花到成熟期间,晋糜 4 号顶三叶 POD 活性平均值为 1 913.45 U/g FW,分别高出宁糜 13 号(1 519.71 U/g FW)、内糜 5 号(1 793.91 U/gFW)20.6%、6.7%。

功能叶片的 MDA 含量最高,其次为内糜 5 号,最后为宁糜 13 号,表明晋糜 4 号细胞膜结构和功能受伤害程度最严重,叶片衰老进程较快,而宁糜 13 号衰老进程最慢。

2.3 叶片丙二醛(MDA)变化

2.4 不同品种糜子产量性状比较

图 5 表明,干旱条件下,随着衰老进程的推进,糜子叶片中的 MDA 含量逐渐升高,不同叶位表现为:倒三叶 > 倒二叶 > 旗叶;不同品种间晋糜 4 号各

表 1 表明,干旱条件下参试品种宁糜 13 号的单株粒数高于内糜 5 号和晋糜 4 号,而千粒质量却显著偏低。在单位面积株数相同的情况下,各糜子品种的产量决定于单株粒数和千粒重,而宁糜 13 号这 2 个产量构成因素的乘积明显大于其余 2 个品种。表明在干旱条件下,宁糜 13 号的叶片能够维持较长的功能期,衰老缓慢,保证了籽粒灌浆期对养分的需求。

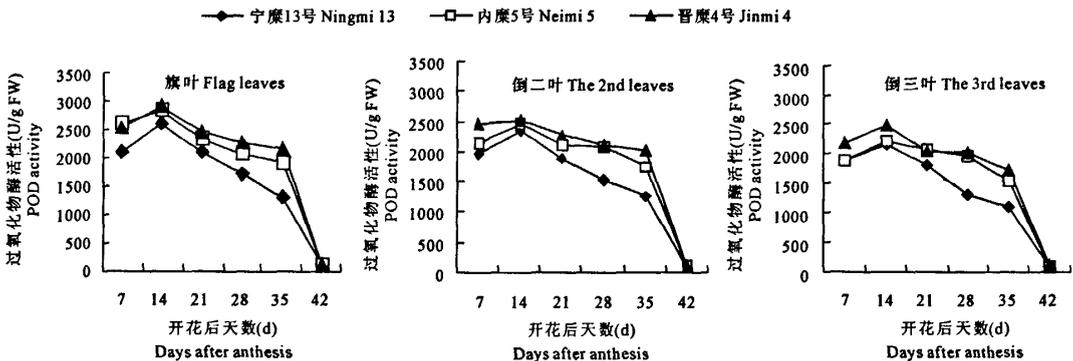


图 4 不同品种糜子叶片过氧化物酶活性变化

Fig.4 Change of POD activity of the leaves of different *P-miliaceum* L. varieties

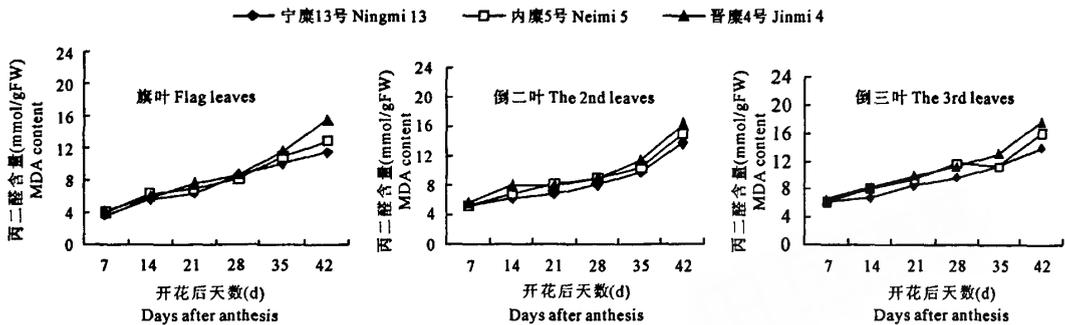


图 5 不同品种糜子叶片丙二醛含量变化

Fig.5 Change of MDA content of the leaves of different *P-miliaceum* L. varieties

表 1 不同糜子品种的产量及构成因素

Table 1 The yield and its components of different *P-miliaceum* L. varieties

品种 Variety	株数 (Plants/hm ²)	单株粒数 Seeds per plant	千粒重(g) 1000-grain weight	实收产量(kg/hm ²) Seeds yield
宁糜 13 号 Ningmi 13	540000	743.23 ± 4.68aA	5.77 ± 0.11cB	2313.94 ± 0.89aA
内糜 5 号 Neimi 5	540000	468.81 ± 2.04bB	7.81 ± 0.15aA	1974.67 ± 0.88bB
晋糜 4 号 Jinmi 4	540000	399.74 ± 1.63cC	7.27 ± 0.03bA	1569.41 ± 0.90cC

注:数据后不同大小写字母表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平(新复极差法)。

Note: Values followed by a different common and capital letter mean significant difference at 0.05 and 0.01 probability levels respectively by LSR method.

2.5 各生理生化指标与产量的相关分析

选取糜子功能叶片生育后期各生理生化指标的平均值与单株产量进行相关性分析,结果表明(表 2),叶绿素含量、过氧化氢酶活性与单株产量之间呈正的显著相关,相关系数 *r* 分别为 0.9226 和

0.9549;超氧化物歧化酶活性和单株产量之间呈极显著正相关,相关系数 *r* = 0.9595;过氧化物酶活性与单株产量呈负的极显著相关,相关系数 *r* = 0.9745;丙二醛含量和单株产量呈负的不显著相关,相关系数 *r* = 0.7765。

表 2 生育后期糜子供试品种抗旱生理生化指标与单株产量的相关系数

Table 2 Simple correlation coefficients between physiological and biochemical indexes relative to drought and yield per plant of the tested cultivars of *P-miliaceum* L. at the late reproductive

性状 Character	单株产量 Yield/Plant	叶绿素 Chl	超氧化物歧化酶 SOD	过氧化氢酶 CAT	过氧化物酶 POD
叶绿素 Chl	0.9226*				
超氧化物歧化酶 SOD	0.9595**	0.9878**			
过氧化氢酶 CAT	0.9549*	0.9567*	0.9892**		
过氧化物酶 POD	-0.9745**	-0.9249*	-0.9728**	-0.9914**	
丙二醛 MDA	-0.7765	-0.9566*	-0.9016*	-0.8423	0.7778

注: ** :0.01 显著水平; * :0.05 显著水平。

Note: **, Significant difference at 0.01 probability; *, Significant difference at 0.05 probability.

3 讨论

许多研究表明,叶绿素含量和衰老之间存在明显的负相关^[23]。植物在逆境条件下,SOD 和 CAT 等保护酶维持较高活力有着重要意义。干旱引起膜伤害是由于生物自由基引起膜中不饱和脂肪酸过氧化和保护酶系统中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢

酶(CAT)活性下降造成的^[25-27]。POD 在植物体内的功能具有多样性,不同植物种类以及同一植物的不同品种材料在衰老过程中,POD 的表现是不同的^[28-30]。MDA 是膜脂过氧化产物的一种,它能强烈地与细胞内各种成分发生反应,引起酶和膜的严重损伤,膜电阻及膜的流动性降低,最终导致膜的结构及生理完整性的破坏^[31]。张英等^[32]研究也发

现,随着叶片的衰老,SOD活性和CAT的活性下降,MDA的含量增加。小麦灌浆期间MDA含量逐渐增加,但由于品种抗旱性不同,MDA含量增加的幅度不同。

本研究表明,干旱条件下不同糜子品种顶三叶叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性均为旗叶>倒二叶>倒三叶,过氧化物酶(POD)和丙二醛含量(MDA)为倒三叶>倒二叶>旗叶。与内糜5号和晋糜4号相比,宁糜13号叶片功能期持续时间长,籽粒产量较高。

参考文献:

- [1] 林汝法,柴岩.中国小杂粮[M].北京:中国农业科技出版社,2002.
- [2] 袁政,张大兵.植物叶片衰老的分子机制[J].植物生理学通讯,2002,38(4):417—422.
- [3] 马林.植物衰老期间生理生化变化的研究进展[J].生物学杂志,2007,24(3):12—15.
- [4] 刘鹏涛,冯佰利,高金锋,等.干旱条件下冬小麦籽粒灌浆期冠层叶片衰老特性研究[J].干旱地区农业研究,2008,26(6):129—132.
- [5] 梁秋霞,曹刚强,苏明杰.植物叶片衰老研究进展[J].中国农学通报,2006,22(8):282—285.
- [6] 鱼欢,冯佰利,张英,等.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.
- [7] 杨淑慎,高俊凤,李学俊.高等植物叶片的衰老[J].西北植物学报,2001,21(6):1271—1277.
- [8] 贾根良,代惠萍,张社奇,等.不同品种谷子叶片衰老与活性氧代谢研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2009,37(3):101—106.
- [9] Olsson M. Alterations in lipid composition, lipid peroxidation and antioxidative protection during senescence in drought stressed plants and non-drought stressed plants of *Pisum sativum*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry Paris*, 1995,33(5):547—553.
- [10] Savitch L V, Nassacci A, Gray G R, et al. Acclimation to low temperature or light mitigates sensitivity to photo inhibition: Roles of the Calvin cycle and the Mehler reaction[J]. *Aust J Plant Physiol*, 2000,27:253—264.
- [11] 冯佰利,高小丽,王长发,等.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.
- [12] 王孝威,曹慧.高等植物衰老的机理研究[J].山西农业大学学报,2004,(4):416—420.
- [13] 李向前,王艳,张富春.棉花耐盐性及抗氧化性研究进展[J].生物技术通报,2009,6:21—24.
- [14] 张宾,冯佰利,韩媛芬,等.干旱条件下冷型小麦叶片衰老特性研究[J].干旱地区农业研究,2003,21(3):70—73.
- [15] LIU Yu-feng, GAO Guo-qing, LI Dao-yuan. Comparison on physio-biochemical characteristics of different varieties under drought stress[J]. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2008, 39(4): 456—461.
- [16] 刘瑞侠,李艳辉,陈邵宁,等.干旱高温协同胁迫对玉米幼苗抗氧化防护系统的影响[J].河南农业大学学报,2008,42(4):363—367.
- [17] 李志刚,董丽杰,宋书宏,等.磷素和干旱胁迫对大豆叶片活性氧和保护酶系统的影响[J].作物杂志,2007,6:35—37.
- [18] 陈毓荃.生物化学实验方法和技术[M].北京:科学出版社,2002.
- [19] 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.
- [20] 王爱国,罗广华,邵从本,等.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.
- [21] 施特尔马赫著,钱嘉渊译.酶的测定方法[M].北京:中国轻工业出版社,1992:186—194.
- [22] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版社西安公司,2000:196—197.
- [23] Martinc, Thlmannkv. The role of protein synthesis in the senescence of leaves[J]. *Plant Physiol*, 1972,49:64—71.
- [24] Leshem Y Y. Oxygen free radicals and plant senescence[J]. *Wheat, News in Plant Physiol*, 1981:1—4.
- [25] Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thorpe T A. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of Superoxide dismutase and catalase[J]. *Journal of Experiment Botany*, 1981,32:93—101.
- [26] 蒋明义,郭绍川.水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J].植物生理学通讯,1996,32(2):144—150.
- [27] 王贺正.水稻抗旱性研究及其鉴定指标的筛选[D].雅安:四川农业大学博士论文,2007.
- [28] Zhang J X, KIRKHAM M B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidases in wheat species[J]. *Plant Cell Physiol*, 1994,35(5):785—791.
- [29] 吴炫柯,李永健,李杨瑞.不同木薯衰老生理特性的研究[J].中国农学通报,2006,22(11):182—184.
- [30] 古今,常有礼,周平,等.云南报春花SOD、POD酶量月际性变化与UV-B辐射关系的研究[J].西北植物学报,2006,26(4):766—771.
- [31] 杨淑慎,高俊凤,李学俊.高等植物叶片的衰老[J].西北植物学报,2001,21(6):37—40.
- [32] 张英,冯佰利,鱼欢,等.抗旱小麦籽粒灌浆期旗叶衰老与活性氧代谢研究[J].干旱地区农业研究,2008,26(2):53—56.

(英文摘要下转第108页)

Effects of exogenous auxin on the senescent characteristics of leaves of maize seedlings during half seawater stresses

LIU Hong-zhan^{1,2}, ZHENG Feng-rong³, TANG Xue-xi¹

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266003, China;

2. Marine College of Shandong University at Weihai, Weihai, Shandong 264209, China;

3. First Institute of Oceanography of SOA, Qingdao, Shandong 266061, China)

Abstract: In order to study the regulative function of exogenous auxin on the plant growth during saline stresses, the impacts of indole acetic acid (IAA) on the related indexes of leaf senescence in the seedlings of stress - tolerant maize variety Nongda108 during the treatment of half seawater were studied. The results indicate: while the extent of seawater stress increases, total chlorophyll content as well as the ratio of chlorophyll a / chlorophyll b decreases, and carotenoid content rises in the leaves. However, the content of soluble protein and malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity ascends, and then declines respectively. This means half seawater can accelerate the senescent progress of leaves. After the treatments of half seawater mixed with IAA at its different ultimate concentrations, MDA content is reduced and other mentioned indexes remain higher level than that of single seawater stress. Among the IAA treatments, the senescent indexes change most evidently especially in the group of 0.5 mg/L. This shows the application of exogenous auxin with appropriate concentration can alleviate the leaf senescence caused by seawater stresses.

Keywords: exogenous auxin; half seawater stress; maize seedling; leaf senescence

(上接第 103 页)

Leaf senescence and protective enzyme system of broomcorn millet under drought condition

ZHANG Pan-pan¹, FENG Bai-li¹, WANG Peng-ke¹, GAO Xiao-li¹,

TA Ju-mei², CHAI Yan¹, SONG Hui¹

(1. College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Foundation Seed Farm in Yulin, Yulin, Shaanxi 719000, China)

Abstract: In three broomcorn millet varieties of Ningmi 13, Neimi 5 and Jinmi 4 which were planted in arid shed, chlorophyll contents, SOD, CAT, POD activities and MDA contents were analyzed after flowering under drought. The results showed that the chlorophyll contents, SOD, CAT and POD activities decreased gradually from 14 days after the varieties flowered, but MDA contents increased gradually as leaves senescence went on. Although the leaves of the varieties presented a similar tendency in their senescence, their senescence progresses differed significantly. Compared with Neimi 5 and Jinmi 4, the leaves of Ningmi 13 declined slowly in chlorophyll contents, SOD, and CAT activities, declined fast in POD activity, and increased slowly in MDA content, thus prolonging their function duration and slowing down the senescence of its leaves, which is conducive to the accumulation of photosynthate; Chlorophyll content, SOD and CAT activities had the positive correlation with yield per plant, but POD and MDA content had negative correlation with yield per plant under drought condition.

Keywords: broomcorn millet; leaf senescence; drought; activity of protective enzyme