

外源生长素对半海水胁迫下 玉米幼苗叶片衰老特性的影响

刘洪展^{1,2}, 郑风荣³, 唐学玺¹

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 山东大学威海分校海洋学院, 山东 威海 264209;

3. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

摘 要: 为了探讨在盐渍环境下外源生长素对植物生长的调节作用, 以抗性玉米品种农大 108 为材料, 研究了 50% 比例海水处理过程中吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)对玉米幼苗叶片衰老相关指标的影响。结果表明: 随着处理时间的延长, 叶片中的叶绿素含量以及叶绿素 a/叶绿素 b 降低, 类胡萝卜素含量升高, 而可溶性蛋白含量、丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性先上升后下降, 说明半海水胁迫可以加快叶片的衰老进程; 补充使用不同浓度的吲哚乙酸后, 丙二醛水平下降, 其余指标保持在较高的水平上, 其中 0.5 mg/L 的吲哚乙酸处理组的衰老指标变化最明显, 说明适宜浓度的外源生长素可以延缓海水胁迫造成的植物叶片衰老。

关键词: 外源生长素; 半海水胁迫; 玉米幼苗; 叶片衰老

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2010)02-0104-05

在北方常规农作物(如小麦和玉米等)栽培上, 干旱缺水是影响农业高产的主要因素之一, 因此发掘可利用的灌溉水资源对作物稳产有重大意义。中国淡水资源紧缺而海水资源十分丰富, 因此发展海水灌溉农业可以缓解农业用水的压力。然而, 直接海水灌溉也容易对植物根系生长造成盐胁迫, 往往加速叶片的衰老^[1]。叶片衰老引起光合作用减退, 将极大程度地限制作物产量潜力的发挥。生长素是一种重要的激素, 有证据表明, 外源生长素与植物逆境或抗性反应存在相互关联, 具有抑制叶片衰老相关基因的功能^[2]。一定浓度的 IAA 处理可促进盐胁迫下大豆幼苗的生长, 使叶片光合速率提高, 增强了保护酶系统活性, 降低膜脂过氧化及膜相对透性, 增强了幼苗对盐渍环境的抵抗能力^[3]。此外, 高盐条件也可以诱导植物生长素和赤霉素含量的增加, 对抗不利环境, 使植物在逆境下生存下来^[4]。因此, 研究外源生长素在盐渍环境下叶片衰老进程中的作用, 对于发掘作物利用环境中海水资源的效率及产量提高的潜力有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

实验以适应性较强的玉米品种农大 108 为材料; 海水取回后自然沉淀、过滤后室温下放置备用。

处理液配制: 过滤后的海水用蒸馏水按体积分数稀释为 1/2 浓度海水。吲哚乙酸用蒸馏水配成 100 mg/L 的母液, 再以 1/2 浓度海水为溶剂, 吸取母液配成终浓度分别为 0、0.005、0.05、0.5、1 mg/L 的生长素溶液。避光保存。

挑取饱满的种子于室温下浸泡催芽, 待露白后挑选籽粒大小相近、发芽基本一致的种子播种于相同重量土壤的塑料盆中, 并在人工气候箱中培养。培养期间光强约为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 湿度为 85%, 昼/夜光周期为 16 h/8 h, 昼夜温度为 37℃/26℃。待幼苗长到两叶一心期时用配制的不同浓度处理液分别进行浇灌处理, 使土壤恰好达到饱和状态, 大约 4 d 后再补充浇灌一次, 以避免干旱胁迫。分别取处理期间各浓度处理液处理 1、3、5、7、9 d 时的幼苗叶片进行各项生理指标的测定。每个测定设 3 次重复取样。

1.2 测定方法

(1) 叶绿体色素测定参照 Arnon 等^[5]的方法, 以 80% 丙酮暗处浸提 48 h, 用 UV-1601 分光光度计测定光吸收值。

(2) 可溶性蛋白含量测定参照 Bradford^[6]等考马斯亮蓝 G₂₅₀法, 以牛血清蛋白为标准蛋白。

(3) 丙二醛含量测定参照赵世杰^[7]等硫代巴比妥酸(TBA)法。

收稿日期: 2009-11-24

基金项目: 国家海洋局青年海洋科学基金重点资助项目(2009119)

作者简介: 刘洪展(1975—), 男(汉), 讲师, 山东潍坊人, 从事逆境光合生理研究。E-mail: hongzhan2002@163.com。

通讯作者: 唐学玺(1965—), 男, 教授, 从事海洋生态学。

(4) 超氧物歧化酶活性测定参照 Giannopolitis&Ries 等氮蓝四唑法^[8],酶活性以抑制 NBT 光化学还原 50% 为一个酶活性单位表示。

2 结果与分析

2.1 生长素对半海水胁迫下玉米幼苗叶片叶绿素含量的影响

叶绿素含量的高低一定程度上反映了叶片的光合性能和衰老程度。在图 1(a)中,海水处理的初期叶绿素含量变化不大,后期叶绿素含量迅速降低,生长素可使叶绿素维持在较高水平。第 5 天时对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中叶绿素含量分别为第 1 天的 93.1%、94.0%、97.1%、117.8% 和 109.1%;此后,所有处理的叶绿

素含量开始下降,第 9 天时叶片中叶绿素含量分别为第 1 天的 51.0%、47.8%、53.9%、65.5% 和 42.6%。在图 1(b)中,随着处理过程的进行,Chl a/b 比值的值表现为先降低后升高,然后又下降的趋势,反映了叶片光能转化潜力的变化,第 7 天时对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中 Chl a/b 比值的值分别为第 1 天的 85.7%、94.9%、105.8%、116.5% 和 89.7%,第 9 天时上述处理的叶片中 Chl a/b 比值的值分别为第 1 天的 82.8%、83.3%、91.1%、98.5% 和 86.1%。上述叶绿素的变化说明海水胁迫不利于光合作用的进行,适宜的生长素处理可以促进胁迫条件下光合性能的发挥。

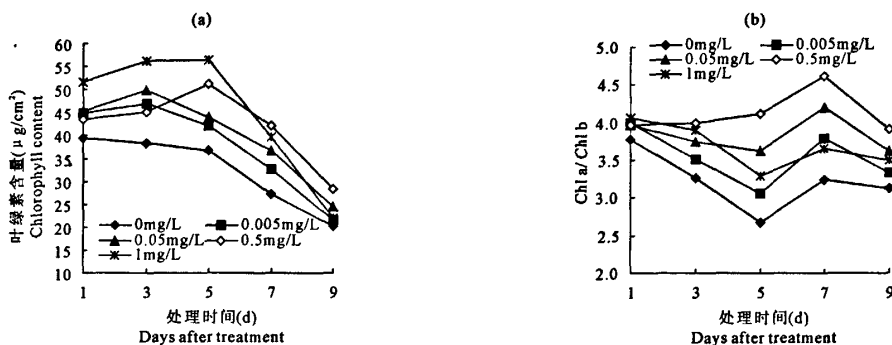


图 1 处理过程中玉米幼苗叶片叶绿素含量的变化

Fig.1 The change of chlorophyll content in the leaves of maize seedlings during the stress treatments

2.2 生长素对半海水胁迫下玉米幼苗叶片类胡萝卜素含量的影响

图 2 表明,海水处理前期叶片中类胡萝卜素含量迅速下降,后期逐渐上升,生长素在胁迫过程中对类胡萝卜素的影响表现为与海水处理相同的变化趋势,但增加了类胡萝卜素含量。第 5 天时对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中类胡萝卜素含量分别比第 1 天时降低了 35.7%、24.7%、24.8%、7.9% 和 20.6%;第 9 天时上述处理的叶片中类胡萝卜素含量分别比第 1 天时增加了 31.6%、6.5%、6.6%、10.4% 和 1.1%。说明严重海水胁迫时有利于叶片类胡萝卜素积累,适宜的外源生长素处理可以起到促进作用。

2.3 生长素对半海水胁迫下玉米幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

由图 3 可知,可溶性蛋白含量在海水处理过程中先缓慢上升,然后又逐渐降低,补充生长素后可溶性蛋白含量增加,随着胁迫的进行表现为与海水处

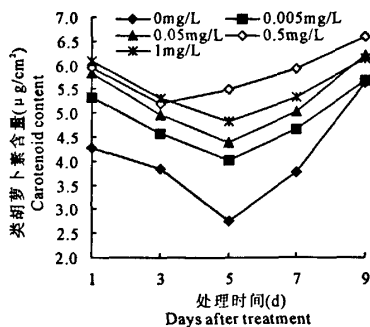


图 2 处理过程中玉米幼苗叶片类胡萝卜素含量变化

Fig.2 The change of carotenoid content in the leaves of maize seedlings during the stress treatments

理相似的趋势。第 5 天时对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中可溶性蛋白含量分别比第 1 天时增加了 28.6%、21.3%、30.5%、37.8% 和 29.1%;第 9 天时上述处理的叶片中可溶性蛋白含量分别比第 1 天时减少了 22.1%、18.9%、14%、

6.4%和 5.1%。说明严重海水胁迫时可促进叶片蛋白质降解,生长素对调节胁迫条件下的蛋白质代谢有显著的作用。

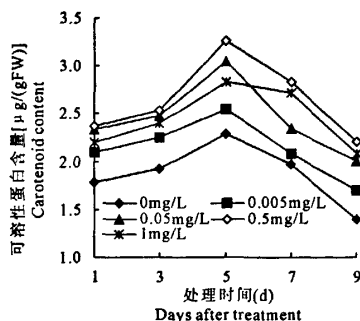


图 3 处理过程中玉米幼苗叶片可溶性蛋白含量的变化

Fig.3 The change of soluble protein content in the leaves of maize seedlings during the stress treatments

2.4 生长素对半海水胁迫下玉米幼苗叶片丙二醛含量的影响

丙二醛(MDA)在叶片衰老过程中的不断积累与质膜被破坏的程度密切相关,是膜系统受伤害的重要标志之一。由图 4 可知,随着海水胁迫的进行,MDA 含量逐渐上升,然后迅速下降。在海水处理期间用生长素处理一段时间后可以降低 MDA 含量,第 7 天时对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中 MDA 含量分别比第 1 天时增加了 1.84、1.07、1.03、0.98 和 1.02 倍;此后 MDA 含量下降,第 9 天时上述处理的叶片中 MDA 含量分别比第 1 天时增加了 90.7%、41.4%、24.8%、2.2% 和 22%。说明海水处理促进了叶片膜脂过氧化作用,生长素处理可部分抑制胁迫导致的膜脂过氧化物的进行。

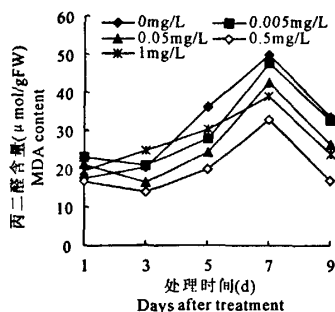


图 4 处理过程中玉米幼苗叶片丙二醛含量的变化

Fig.4 The change of malondialdehyde content in the leaves of maize seedlings during the stress treatments

2.5 生长素对半海水胁迫下玉米幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

SOD 作为膜脂过氧化保护酶,能清除细胞内活

性氧对细胞膜的伤害。由图 5 可知,海水处理初期叶片中 SOD 活性升高,后期急剧下降。在海水处理期间不同浓度生长素处理均促进 SOD 活性,变化趋势相同,只是升高和降低的幅度有所差异,第 5 天对照、0.005、0.05、0.5 和 1 mg/L 的生长素处理的叶片中 SOD 活性分别比第 1 天时增加了 1.18、1.07、1.17、1.34 和 1.27 倍;第 9 天时上述处理的叶片中 SOD 活性几乎相同,分别比第 1 天时减少了 27.6%、26.1%、14.8%、11.1% 和 7.4%。说明 SOD 活性受轻度海水胁迫诱导,并且适宜浓度的生长素可以使 SOD 维持在较高活性的水平。

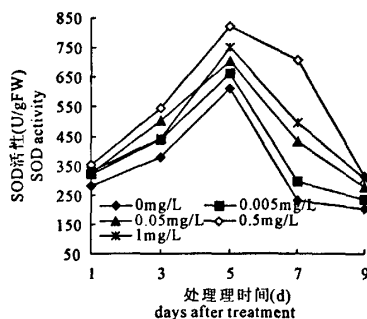


图 5 处理过程中玉米幼苗叶片超氧化物歧化酶活性变化

Fig.5 The change of superoxide dismutase activity in the leaves of maize seedlings during the stress treatments

3 讨论

叶绿素逐渐丧失是叶片衰老的特征,可作为衰老的重要参数,叶绿素含量降低越快,表明叶片衰老越快^[9]。本试验中,半海水胁迫条件下,从第 5 天开始叶绿素含量急剧下降,补充适宜浓度的生长素后,叶绿素含量减少的速度降低,其中 0.5 mg/L 生长素处理的叶片中叶绿素降低最慢(图 1a),此外,半海水胁迫条件下 Chl a/b 比值明显下降,生长素处理可以减缓该比值的降低,其中以 0.5 mg/L 生长素处理的效果最好(图 1b)。Chl a 和 Chl b 之间的相互转化称为“叶绿素循环”,在不同生理条件下调控 Chl a/b 比值过程中起重要作用,在 Chl a/b 比值较高的功能性滞绿突变体中,类囊体膜较稳定,光化学效率也较高,能够保持光合作用的进行^[10]。在植物中,叶绿素的分解和光合能力的下降常与衰老伴随发生,因此适宜的生长素处理可以通过增强叶片光合性能而缓解盐渍胁迫造成的衰老。

蛋白质含量降低是衰老过程的另一个显著标志,成熟组织中蛋白质的周转是由一种合成和分解的平衡系统所维持,随着植物叶片的衰老,一方面蛋

白质降解加速;另一方面脂质过氧化又可能与蛋白质合成复合体反应并产生有毒产物而抑制蛋白质的合成^[11]。本实验中,可溶性蛋白的含量从第5天开始降低,处理液中添加生长素后,可溶性蛋白在胁迫条件下的变化趋势没有改变,但是蛋白质降低的速度较胁迫时明显减慢,其中0.5 mg/L生长素处理的调节作用最显著(图3),由于植物叶片中可溶性蛋白的一半以上为光合关键酶核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBPCase),而且可溶性蛋白含量高与光合速率较高的时期相一致^[12],因此适宜浓度的生长素可以通过调节RuBPCase的含量和活性来延缓半海水胁迫诱导的叶片衰老。

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^[13]。活性氧伤害是引起植物叶片衰老的原因之一,植物可通过酶系统和非酶系统清除活性氧。类胡萝卜素属于非酶系统成员之一,它除在光合作用中具有一定的功能外,在细胞内还可淬灭活性氧,从而保护叶绿素和光合机构^[14]。本实验中,半海水胁迫下类胡萝卜素含量从第5天开始升高,外源生长素促进了类胡萝卜素的积累(图2),这与叶绿素总量的变化趋势相反,说明类胡萝卜素的主要功能在于保护叶绿素,维持能量平衡和光合作用的进行,以延缓胁迫导致的叶片衰老,生长素的使用加强了类胡萝卜素的功能,其中0.5 mg/L生长素处理的作用最明显。

植物衰老的过程同时也是活性氧代谢失调积累的过程,叶片SOD和CAT活性随衰老而下降,具有很强氧化能力的超氧阴离子自由基活性随衰老而增加^[15],同时伴有MDA含量的上升,即膜脂过氧化的加强^[16]。本实验表明,SOD活性只有从第5天才开始下降,尽管使用外源生长素后,SOD活性能够维持在高于胁迫时的水平上(图5),反映了胁迫条件下植物的一种应激保护反应^[17];而丙二醛的含量在胁迫条件下从第3天就开始增加(图4),表明膜脂过氧化已经开始启动,补充外源生长素后丙二醛含量明显降低,在0.5 mg/L生长素处理的叶片中丙二醛增加的速率最慢,这说明生长素通过促进胁迫条件下的SOD活性以减少活性氧的数量,从而维持细胞膜的完整性^[18],这样就可以保证叶绿体色素平衡能量的吸收和转化,以便稳定光合代谢的进行,因而延

缓了叶片的衰老进程。

参考文献:

- [1] 梁秋霞,曹刚强,苏明杰,等.植物叶片衰老研究进展[J].植物生理科学,2006,28(2):282—285.
- [2] 包方,胡玉欣,李家洋.通过cDNA阵列技术鉴定拟南芥生长素应答基因[J].科学通报,2001,46(23):1988—1992.
- [3] 魏爱丽,陈云昭. IAA对盐胁迫下大豆幼苗膜伤害及抗盐力的影响[J].西北植物学报,2000,20(3):410—414.
- [4] 欧阳琳,洪亚辉,黄丽华,等.不同逆境胁迫信号对超级稻幼苗生理生化影响及植物激素变化的初步研究[J].农业现代化研究,2007,28(1):104—106.
- [5] Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta Vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1—15.
- [6] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254.
- [7] 赵世杰,许长成,邹琦,等.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯,1994,30(3):207—210.
- [8] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1997, 59: 309—314.
- [9] 梁颖,王三根,李帮秀.钙对离体水稻叶片和地上部衰老的影响[J].西南农业大学学报,1997,19(2):121—125.
- [10] Kusaba M, Ito H, Morita R, et al. Rice NON-YELLOW COLORING1 is involved in light-harvesting complex II and grana degradation during leaf senescence[J]. Plant Cell, 2007, 19(4):1362—1375.
- [11] 冯兆忠,王静,冯宗伟.三唑酮对离体黄瓜子叶过氧化物酶活性及蛋白质含量的影响[J].环境科学,2002,23(5):126—128.
- [12] 翁晓燕.油菜素内酯对水稻产量和光合特性的影响[J].浙江农业大学学报,1995,21(1):51—54.
- [13] 冯佰利,高小雨,赵琳.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.
- [14] Burton G W, Ingold K U. β -carotene: an unusual type of lipid antioxidant[J]. Science, 1984, 224: 569—573.
- [15] Chin J C, Ching H K. H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness[J]. Plant Growth Regul, 1998, 25: 11—15.
- [16] 于振文,岳寿松,沈成国,等.不同密度对冬小麦开花后叶片衰老和籽粒重量的影响[J].作物学报,1995,21(4):412—416.
- [17] 胡学俭,孙明高,夏阳,等. NaCl胁迫对无花果与海棠膜脂过氧化作用及保护酶活性的影响[J].西北植物学报,2005,25(5):937—943.
- [18] 刘娟,马小乐,尚励武,等.外源 IAA 对小麦“西旱2号”幼苗水分胁迫和 NaCl 胁迫的缓解响应[J].甘肃农业大学学报,2009,44(2):47—51.

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