

不同品种谷子叶片衰老与活性氧代谢研究

贾根良^{1a},代惠萍²,张社奇^{1a},冯佰利^{1b},任学敏^{1b},秦晓威^{1b}

(1 西北农林科技大学 a 理学院,b 农学院,陕西 杨凌 712100;

2 铜川职业技术学院,陕西 铜川 727031)

【摘要】 【目的】揭示不同品种谷子叶片衰老及活性氧代谢的变化规律。【方法】以谷子品种‘05-61’和‘金谷 3 号’为材料,研究开花后至成熟期谷子叶片净光合速率(P_n)、叶绿素含量、酶促防御系统保护酶(SOD、CAT、POD)活性及 MDA、 H_2O_2 和 O_2^- 积累量的动态变化规律。【结果】2 个参试品种各功能叶片的净光合速率(P_n)、叶绿素含量及 SOD、CAT、POD 活性均在开花 14 d 后逐渐下降,MDA、 H_2O_2 和 O_2^- 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,但衰老进程存在显著差异;与‘金谷 3 号’相比,‘05-61’各功能叶片衰老过程中 SOD、CAT、POD 活性下降较慢,叶片功能期持续时间长,这在籽粒灌浆中后期表现尤为明显;‘05-61’籽粒产量显著高于‘金谷 3 号’。【结论】在谷子开花灌浆期间,有效控制或延缓开花叶片的衰老进程,维持叶片的生理功能,对籽粒产量的形成具有重要作用。

【关键词】 谷子;叶片衰老;叶绿素含量;保护酶活性;活性氧代谢

【中图分类号】 S515.01

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0101-06

Leaf senescence and activate oxygen metabolism of different foxtail millet varieties

JIA Gen-liang^{1a},DAI Hui-ping²,ZHANG She-qi^{1a},FENG Bai-li^{1b},
REN Xue-min^{1b},QIN Xiao-wei^{1b}

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

2 Tongchuan Polytechnic,Tongchuan,Shaanxi 727031,China)

Abstract:【Objective】 This research aimed to study the leaves activity of different foxtail millet varieties and the aging characteristics of oxygen metabolism.【Method】 The foxtail millet variations of the net photosynthetic rate (P_n),the contents of chlorophyll,SOD,CAT and POD activities MDA, H_2O_2 and O_2^- contents of the leaves of two foxtail millet varieties,‘05-61’ and ‘Jingu 3’ from flowering to maturing were studied.【Results】 Results showed that the photosynthetic rate (P_n) and chlorophyll contents,SOD,CAT and POD activities gradually decreased from 14 days after the varieties flowered to maturing,but MDA, H_2O_2 and O_2^- contents gradually increased as leaves senescence went on. Although the leaves of the two varieties presented a similar tendency in their senescence,their senescence progresses significantly differed. Compared with leaves of ‘Jingu 3’,the leaves of ‘05-61’declined slowly in SOD,CAT and POD activities,and these changes were observed significantly in the middle and late stage of grain filling.【Conclusion】 The yield of ‘05-61’ was significantly higher than that of ‘Jingu 3’. It was important to seed yield formation of foxtail millet to effectively control or slow down the senescence of its leaves,and maintain physiological functions of its leaves during the later growth.

* [收稿日期] 2008-05-13

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2007K01-15-1)

[作者简介] 贾根良(1965—),男,河南杞县人,高级实验师,主要从事环境生物物理研究。E-mail:daihp72@yahoo.com.cn

[通信作者] 张社奇(1964—),男,陕西扶风人,教授,硕士生导师,主要从事土壤生态与环境生物物理研究。

Key words: foxtail millet; leaf senescence; chlorophyll content; defending enzyme activity; activate oxygen metabolism

谷子[*Setaria italica* (L.) Beauv.]是起源于中国的传统粮食作物,具有较为突出的耐旱、耐瘠特点,主要分布在西北、华北、东北的干旱和半干旱地区^[1]。由于我国谷子研究起步较晚,生产管理粗放,单产水平普遍较低,因此探索谷子的生育特性、提高谷子产量和品质,是生产中亟待解决的问题。

前人研究表明,植株叶片衰老不仅表现为叶绿素及可溶性蛋白质含量降解,而且还伴随着活性氧代谢的失调^[2-3]。自从引入自由基伤害学说以来,活性氧自由基与植物衰老关系的研究正在不断深入^[4]。活性氧伤害是引起植物叶片衰老的原因之一,植物细胞在正常代谢过程中通过多种途径产生的活性氧,能破坏细胞的大分子结构,引起膜脂过氧化,造成细胞膜系统破坏,影响细胞正常代谢^[5-6]。但同时体内也存在能清除活性氧的抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ASP)等活性氧清除酶系统的重要保护酶,能有效阻止植物体内活性氧,如 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 、 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)增加、叶绿素降解和光合酶活性下降,使植物光合能力下降^[8-10]。试验研究表明,活性氧代谢失调是引起作物叶片早衰的重要原因^[11]。目前,有关谷子植株生长发育过程中叶片衰老特性的研究尚未见报道。本研究以谷子品种‘05-61’和‘金谷 3 号’为材料,研究谷子生育期间叶片衰老及活性氧代谢的变化规律,以为谷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 2007-05-10 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,年均降水量 660 mm,且主要集中在 7~9 月,属暖温带半湿润气候。试验地土壤为壤土,前茬休闲。试验谷子品种为‘05-61’和‘金谷 3 号’,2007-05-01 播种,三叶期定苗。试验采用随机区组排列,小区面积 $3\text{ m} \times 2.6\text{ m} = 7.8\text{ m}^2$,

重复 3 次,基本苗为 120~130 万株/ hm^2 。施纯氮 80 kg/hm^2 ,以过磷酸钙为底肥,施用量为 1 000 kg/hm^2 ,其他田间管理按照国家谷子品种区域试验进行。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 净光合速率(P_n)测定 自谷子开花至成熟期,每隔 7 d 左右,选取有代表性的植株,用 LI-COR 公司生产的 LI-6400 便携式光合系统测定不同叶位叶片的 P_n ,每次均在晴天上午 8:30~10:30,按田间小区种植顺序往返采样测定,每品种共测定 6 株,以 6 次重复的平均值作为该叶位叶片的代表值。

1.2.2 与叶片衰老及活性氧代谢相关的部分指标的测定 在谷子开花期选择同一天开花、生长基本一致且无病虫害的谷子主茎,挂牌标记,其后第 7 天开始并每隔 7 d 于上午 8:00 取样,选取具有代表性的标记植株主茎顶三叶各 6 片。剪下所有样品及时放入冰壶带回实验室,分叶位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,当日取样当日测定完各项生理指标,重复 3 次,酶的测定应在取样后 4 h 内完成。

(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 法计算其含量^[12-13]。

(2)SOD、CAT、POD 活性。取鲜样 0.500 g 剪碎,置预冷研钵中,加含 10 g/L PVP 的 50 mmol/L 冷磷酸缓冲液(pH 7.8)10 mL 及少量石英砂,在冰浴中研磨提取,匀浆于 2°C 20 000 $\times g$ 冷冻离心 20 min,上清液即为酶提取液。用此酶液参照王爱国等^[14]和刘道宏^[13]的改进法测定 SOD 活性,用 Stellmach^[15]的方法测定 CAT 和 POD 活性。

(3) O_2^- 和 H_2O_2 含量。参照王爱国等^[14]的方法测定。

(4)MAD 含量。采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[12]测定。

1.2.3 产量及其构成因素 在小区中间选取生长均匀一致的谷子 3 m^2 进行人工常规考种。测定谷子的穗粒数、千粒质量、有效小穗数、无效小穗数及实际产量。

1.3 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel、DPS 统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种谷子叶片净光合速率(P_n)的变化

由图 1 可以看出,随着谷子成熟期临近,不同叶位叶片的 P_n 均呈下降趋势,花后初期变化较平稳,花后 14 d 左右,随着植株的衰老, P_n 开始快速下

降。同一品种不同叶片的 P_n 随叶位的升高而降低,即旗叶>倒二叶>倒三叶。2 个谷子品种各功能叶片 P_n 的动态变化趋势基本一致,但变化幅度和各时期的 P_n 存在显著差异。进一步比较表明,‘05-61’各叶片 P_n 均显著高于‘金谷 3 号’。

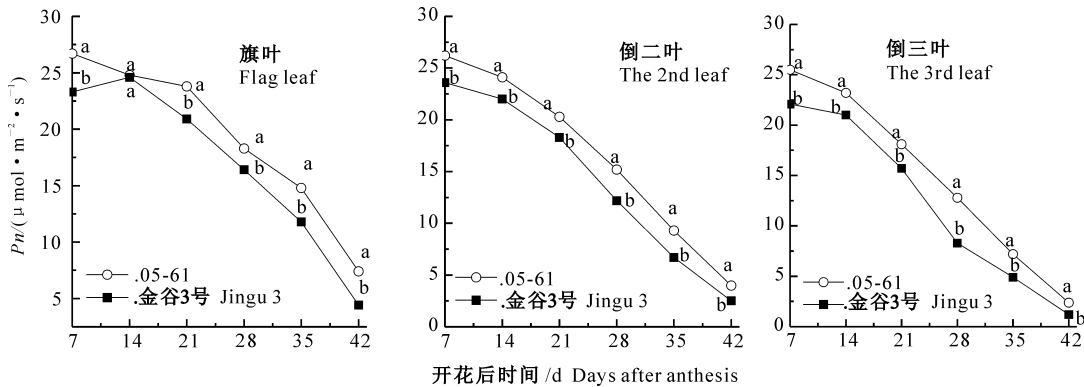


图 1 不同品种谷子叶片净光合速率(P_n)的变化

相同测定时间数对标不同小写字母表示在 0.01 水平上差异显著(新复极差法)。下图同

Fig. 1 Changes of photosynthetic rate (P_n) of the leaves of different foxtail millet varieties

Different letters on the same date mean significant difference at 0.01 level by LSR method. The same as below

2.2 不同品种谷子叶片叶绿素含量的变化

图 2 表明,随着谷子植株成熟期的临近,2 个品种谷子旗叶叶绿素含量均趋于减少,且二者的叶绿素平均含量存在显著差异。倒二叶和倒三叶叶绿素含量随生育期的变化趋势与旗叶一致,但叶绿素平均含量表现为旗叶>倒二叶>倒三叶。2 个谷子品种比较,‘05-61’各叶片叶绿素含量大多显著高于同期的‘金谷 3 号’,且生育后期叶绿素降解较慢。表明在谷子生育后期,‘05-61’功能叶片的功能期持续时间较长,具有较强的捕获光能的能力,这为其光合作用的进行奠定了基础。

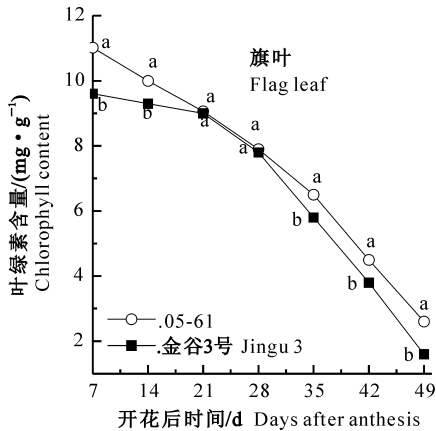


图 2 不同品种谷子叶片叶绿素含量的变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll content of the leaves of different foxtail millet varieties

2.4 不同品种谷子叶片活性氧含量的变化

H_2O_2 是植物体中寿命较长的一种活性氧,植物在生长过程中,体内会产生并积累一定量的 H_2O_2 。从图 4 可以看出,谷子开花后,随着生育进程的推进,2 个品种各功能叶片内 H_2O_2 和 O_2^- 含量均逐渐增加;倒二叶和倒三叶中 H_2O_2 、 O_2^- 含量的变化趋势与旗叶一致,且旗叶>倒二叶>倒三叶。2 个谷子品种比较,‘金谷 3 号’各叶片的 H_2O_2 和 O_2^- 含量均极显著高于同期的‘05-61’,且上升幅度较

大;到完熟期(花后 49 d)时,‘金谷 3 号’旗叶、倒二叶、倒三叶中 H_2O_2 含量分别为 3.32、3.72 和 3.86 mmol/g,比同期‘05-61’谷子分别高 9%,10%和

11%;‘金谷 3 号’旗叶、倒二叶、倒三叶 O_2^- 含量分别为 1.02、1.35 和 1.88 mmol/g,分别比同期‘05-61’谷子高 16%,19%和 21%。

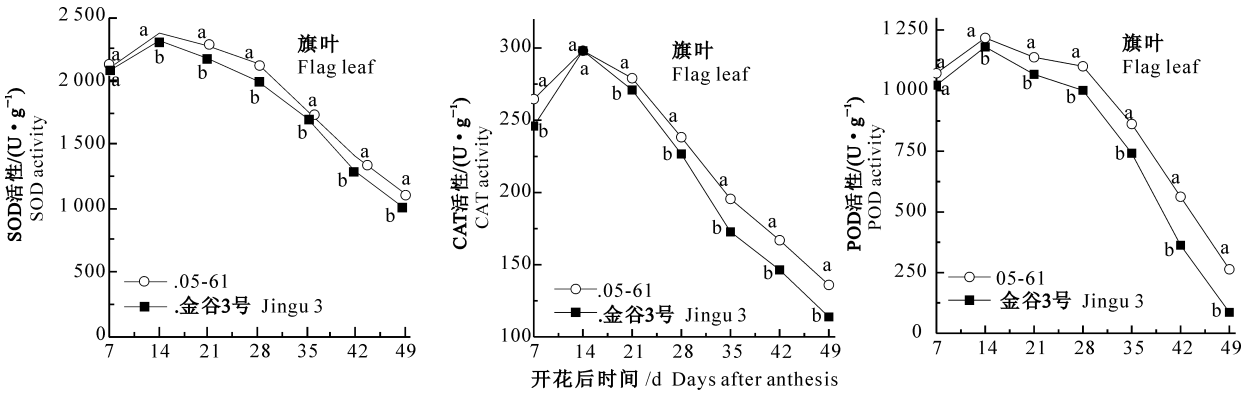


图 3 不同品种谷子叶片 SOD、CAT、POD 活性的变化

Fig. 3 Changes of SOD,CAT,POD activity of the leaves of different foxtail millet varieties

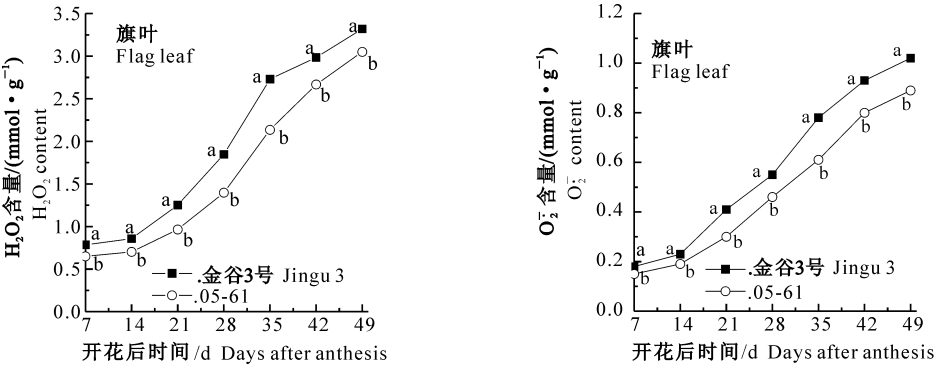


图 4 不同品种谷子叶片 H_2O_2 和 O_2^- 含量的变化

Fig. 4 Changes of H_2O_2 , O_2^- contents of the leaves of different foxtail millet varieties

2.5 不同品种谷子叶片丙二醛(MDA)含量的变化

丙二醛(MDA)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害的程度^[10]。图 5 表明,谷子开花后,随着生育进程的推进,2 个品种旗叶的 MDA 含量均逐渐升高。倒二叶和倒三叶 MDA 含量变化趋势与旗叶一致,且旗叶<倒二叶<倒三叶。2 个品种比较,‘金谷 3 号’各叶片的 MDA 含量极显著高于同期的‘05-61’,且上升幅度较大,到完熟期(花后 49 d)时,‘金谷 3 号’旗叶、倒二叶、倒三叶 MDA 含量分别为 5.09、5.20 和 5.89 mmol/L,分别比同期‘05-61’谷子叶片高 18.5%,20.6%和 27.8%。说明谷子在植株衰老过程中,‘05-61’叶片膜脂过氧化程度较低,细胞膜结构和功能受伤害轻,植株生长代谢旺盛;而‘金谷 3 号’叶片膜脂过氧化程度高,细胞膜系统结构和功能受伤害程度重,植株早衰。

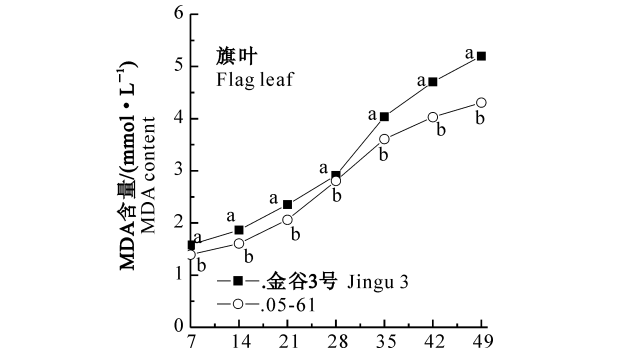


图 5 不同品种谷子叶片丙二醛(MDA)含量的变化

Fig. 5 Changes of MDA content of the leaves of different foxtail millets

2.6 不同品种谷子产量性状的比较

谷子的籽粒产量由单位面积株数、单株穗数、穗粒数和千粒质量构成。表 1 表明,参试品种‘05-61’单株穗数和穗粒数极显著高于‘金谷 3 号’,而千粒

质量却显著偏低。在单位面积株数差异不显著的情况下,2 个谷子品种的产量决定于单株穗数、穗粒数和千粒质量,而‘05-61’这 3 个产量构成要素的乘积

明显大于‘金谷 3 号’,即‘05-61’的产量显著高于‘金谷 3 号’,这表明在同等栽培条件下,不同品种谷子单位面积的产量主要取决于单株穗数和穗粒数。

表 1 不同基因型谷子的产量及构成因素

Table 1 Yield and yield components of different foxtail millet genotypes

品种 Variety	单位面积株数/ (10 ⁵ · hm ⁻²) Ear per unit area	单株穗数/ (10 ⁵ · hm ⁻²) Number of spike	穗粒数 Grain of spike	千粒质量/g 1 000-grain weight	产量/(kg · hm ⁻²) Grain yield
05-61	1.23±0.6 a	72±13 aA	1 329±212 aA	2.33±0.2 bB	1 828±289 aA
金谷 3 号 Jingu 3	1.19±0.5 a	66±15 bB	1 090±201 bB	3.05±0.2 aA	1 740±321 bB

注:同列数据后标不同小写或大写字母,分别表示差异达 0.05 或 0.01 显著水平(新复极差法)。
Note: Values followed by different common and capital letters are significant at 0.05 and 0.01 probability levels respectively by LSR method.

3 讨 论

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,如超氧阴离子自由基(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)、羟基自由基(·OH)、单线态氧(¹O₂)等的产量增加^[9-10],而活性氧清除剂(如 SOD、CAT、POD)、维生素 E、维生素 C 和胡萝卜素等的含量或活性水平下降,使活性氧的产生与清除动态平衡受到破坏,出现活性氧积累(O₂⁻、H₂O₂ 主要作为氧化剂对植物组织产生毒害作用,且产生氧化能力极强的·OH 和¹O₂),对细胞造成极大伤害^[16],导致膜脂过氧化产物 MDA 含量剧增,使植物组织衰老死亡^[17-18]。

本研究表明,不同谷子品种顶三叶净光合速率、H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量、叶绿素含量及 SOD、CAT、POD 活性均为旗叶>倒二叶>倒三叶,丙二醛含量为旗叶<倒二叶<倒三叶。参试品种‘05-61’与‘金谷 3 号’旗叶内 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量随着衰老进程的加快而逐渐升高,活性氧清除系统中 SOD、CAT、POD 活性均在开花 14 d 后逐渐下降,膜脂过氧化产物 MDA 含量增加,导致各功能叶片的叶绿素含量下降。虽然 2 个品种叶片衰老的总体变化趋势一致,但衰老进程存在显著差异。与‘金谷 3 号’相比,‘05-61’各功能叶片衰老过程中,SOD、CAT 活性下降较慢,叶片功能期持续时间长,这在籽粒灌浆中后期表现尤为明显,因而籽粒产量显著高于‘金谷 3 号’。植物可通过多种途径产生 O₂⁻、H₂O₂ 等活性氧,同时细胞内也存在清除这些活性氧的多种途径。在大田生长条件下,谷子开花后,籽粒灌浆期是营养生长和生殖生长并进的旺盛时期,叶片生长和籽粒的形成都需要大量养分,但此时主要供给籽粒灌浆的光合叶片逐渐进入衰老阶段,光合生产能力减弱,影响产量潜力的发挥^[9]。参试品种‘05-61’叶

片功能期相对较长,衰老较慢,生育后期能保持相对较高的净光合速率,制造和积累的干物质较多,保证了植株大量开花结莢对营养的需求,因而单株穗数和籽粒产量显著高于‘金谷 3 号’谷子。

综上所述,在谷子开花后期,SOD、CAT、POD 参与了谷子叶片衰老进程的调控,并通过协同作用来保护叶片,减少活性氧伤害,维持叶片生理功能,对籽粒产量的形成具有重要作用。因此,在谷子栽培和育种中,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,促进籽粒充实,可以达到提高谷子产量和品质的目的。

[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,2002:91-105.
Lin R F,Chai Y. Minor grain crops in China [M]. Beijing:China Agricultural Sci & Tech Press,2002:91-105. (in Chinese)
[2] 冯佰利,王长发,苗 方,等. 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:自然科学版,2002,30(2):6-10.
Feng B L,Wang C F,Miao F,et al. Analysis of lower canopy temperature and physiological characteristics of cold type wheat under drought [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2002,30(2):6-10. (in Chinese)
[3] 冯佰利,高小丽,赵 琳,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):474-476.
Feng B L,Gao X L,Zhao L,et al. Leaf senescence and active oxygen metabolism of different-type wheats under drought [J]. Chin J Eco-Agric,2005,13(4):474-476. (in Chinese)
[4] 魏道智,戴新宾,许晓明. 植物叶片衰老机理的几种假说 [J]. 广西植物,1998,18(1):89-96.
Wei D Z,Dai X B,Xu X M. Several hypotheses on the mechanism of the plant leaf senescence [J]. Guihaia,1998,18(1):89-96. (in Chinese)

[5] 代惠萍,冯佰利,高金锋,等. 糜子叶片衰老与活性氧代谢研究[J]. 干旱地区农业研究,2008,26(1):117-220.
Dai H P,Feng B L,Gao J F,et al. Leaf senescence and active oxygen metabolism in *Panicum miliaceum* L [J]. Agri Res Arid Areas,2008,26(1):117-220. (in Chinese)

[6] 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.
Yang S S,Gao J F,Li X J. Leaf senescence in higher plant [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2001, 21 (6) : 1271-1277. (in Chinese)

[7] 高小丽,高金锋,冯佰利,等. 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.
Gao X L,Gao J F,Feng B L,et al. Leaf senescence of different mung bean varieties during their late growth [J]. Acta Botanica Boreall-Occ identialia Sinca, 2007, 27 (5) : 947-953. (in Chinese)

[8] 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.
Yu H,Feng B L,Zhang Y,et al. Leaf aging and reactive oxygen species metabolism of winter wheat in different cultivation modes [J]. Acta Agron Sin,2007,33(10): 1729-1732. (in Chinese)

[9] 郭 峰,万书波,王才斌. 麦套花生产量形成期固氮酶和保护酶活性特征研究 [J]. 西北植物学报,2007,27(2):309-314.
Guo F,Wan S B,Wang C B. Nitrogenase and protective enzyme activities during the yield-forming stage of high-yield peanut intercropped with wheat [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2007,27(2):309-314. (in Chinese)

[10] 高茂盛,廖允成,尹振燕,等. 麦秸还田对隔茬冬小麦根系及叶片衰老的影响 [J]. 西北植物学报,2007,27(2):303-308.
Gao M S,Liao Y C,Yin Z Y,et al. Effects of returning straw into field on next year winter wheat root system development and leaf senescence [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2007,27 (2):303-308. (in Chinese)

[11] 代惠萍,冯佰利,贾根良,等. 糜子根系与旗叶协同衰老的生理生化机理研究 [J]. 西北植物学报,2008,28(8):1663-1668.
Dai H P,Feng B L,Jia G L,et al. Biochemical mechanism of synergistic senescence between root system and flag leaf senescence in Broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2008, 28 (8) : 1663-1668. (in Chinese)

[12] 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.
Gao J F. Experimental technique for plant physiology [M]. Xi'an: World-Books Publishing Company, 2000: 101-103. (in Chinese)

[13] 刘道宏. 植物叶片衰老 [J]. 植物生理学通讯,1993(1):14-19.
Liu D H. Leaf senescence of plant [J]. Plant Physiology Communications,1993(1):14-19. (in Chinese)

[14] 王爱国,罗广华,邵从本,等. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系 [J]. 植物生理学报,1990(6):55-57.
Wang A G,Luo G H,Shao C B,et al. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. Plant Physiology Communications,1990 (6):55-57. (in Chinese)

[15] 施特尔马赫. 酶的测定方法 [M]. 钱嘉渊,译. 北京:中国轻工业出版社,1992:186-194.
Stellmach B. Determination of enzyme [M]. Qian J Y, trans. Beijing, China Light Industry Press, 1992: 186-194. (in Chinese)

[16] 杨淑慎,高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老 [J]. 西北植物学报,2001,21(2):215-220.
Yang S S,Gao J F. Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2001, 21 (2) : 215-220. (in Chinese)

[17] 刘 萍,郭文善,浦汉春,等. 灌浆期高温对小麦剑叶抗氧化酶及膜脂过氧化的影响 [J]. 中国农业科学,2005,38(12):2403-2407.
Liu P,Guo W S,Pu H C,et al. Effects of high temperature during grain filling period on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in flag leaves of wheat [J]. Scientia Agricultura Sinica,2005,38(12):2403-2407. (in Chinese)

[18] 于振文,田奇卓,潘庆民. 黄淮麦区冬小麦超高产栽培的理论与实践 [J]. 作物学报,2002,28(5):577-585.
Yu Z W,Tian Q Z,Pan Q M. Theory and practice on cultivation of super high yield of winter wheat in the wheat fields of Yellow river and Huaihe river districts [J]. Acta Agron Sin, 2002, 28 (5) : 577-585. (in Chinese)