

抗旱小麦籽粒灌浆期旗叶衰老与活性氧代谢研究

张 英,冯佰利*,鱼 欢,高小丽,王鹏科,刘鹏涛

(西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以 3 种抗旱品种长武 134、铜麦 3 号、西农 794 为供试材料,研究干旱条件下小麦旗叶衰老与活性氧代谢特征。试验结果表明,灌浆期不同抗旱性品种小麦旗叶衰老和活性氧代谢存在差异。与长武 134 和铜麦 3 号相比较,西农 794 的叶绿素含量较高且降低趋势最缓慢;开花后第 14 天长武 134 的过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性较高,后期活性降低快,西农 794 两种酶活性在灌浆后期含量较高,降低速度慢,持续时间长;整个灌浆期间西农 794 的丙二醛含量最少,膜质过氧化程度最低,叶片衰老程度最慢。

关键词:抗旱品种;灌浆期;叶片衰老;活性氧代谢

中图分类号:S 512.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7601(2008)02-0053-04

西北地区是我国小麦的主产区,但干旱少雨,因此推广优良的抗旱品种是提高小麦产量的重要环节。小麦属于喜凉的C₃作物,籽粒灌浆过程的适宜温度为 20℃~24℃,最高温度为 30℃~32℃,而在小麦生育后期其籽粒灌浆过程一般是伴随着气温的逐渐升高而完成的,并常伴有干热风的出现,这对小麦的生长发育和产量品质的形成产生不利的影响^[1]。多年来,人们对叶片衰老的产生及其调控开展了大量的研究,以期在理论上揭示叶片衰老的生理生化机制,便于在小麦生产以及粮食作物生产实践中有目的地对叶片进行调控,以提高农作物的产量或延长农产品的贮藏期。

自由基伤害假说认为,叶片衰老过程中自由基积累,自由基清除能力降低。有关实验证明,叶片衰老与活性氧代谢呈正相关。近年来,植物叶片衰老与自由基的关系已引起了相关研究人员的关注,在水稻^[2]、花生^[3]、玉米^[4]、小麦^[1,5]等植物叶片衰老过程变化的研究中,已经证明了自由基积累,膜脂过氧化作用增强,内源抵御活性氧毒害能力下降时,叶片容易出现早衰现象。因此,有效地控制叶片内活性氧的水平,可以延缓叶片衰老,提高农作物的产量。与自由基积累、自由基清除能力有关的SOD、CAT、抗坏血酸过氧化物酶(ASP)活性、丙二醛(MDA)含量等均被认为是叶片衰老的重要生理指标^[6]。植株生育后期体内许多需氧代谢过程产生的活性氧增加,活性氧清除剂减少,使活性氧不能被及时清除,造成对细胞及组织的损害,是导致叶片衰

老加速的重要原因^[7,9]。有关试验证明,叶片衰老与活性氧代谢呈正相关^[9]。

在正常生理情况下,植物叶片细胞内活性氧的产生和清除处于动态平衡,因此,一般认为细胞和组织中活性氧产生且不能被及时清除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^[10,11]活性的高低,细胞中的主要保护酶有超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),过氧化氢酶CAT,谷胱甘肽还原酶(GR)等。

本文以三种不同抗旱品种长武 134,铜麦 3 号,西农 794 为供试材料。其中,长武 134 为弱冬性中熟品种,抗寒耐旱,适应性强,增产潜力大。铜麦 3 号为冬性小麦,越冬性好,在黄淮冬麦区旱地均可正常越冬。西农 794 为冬性,抗倒伏,抗旱、抗逆,叶功能期长,落黄好,且对其它病虫害田间综合抗性好。突出特点为:综合性状好,耐旱、丰产、优质、抗条锈病,品质优良,是陕西省 2004 年秋播区域化布局指导品种之一。本文通过对这三种小麦旗叶衰老与活性氧代谢的比较研究,以期对干旱地区抗旱品种的选择和选育提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2005~2006 年在西北农林科技大学农作一站试验田进行。该站位于黄土高原南部半湿润易旱区,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。供试的 3 个抗旱冬小麦

收稿日期:2007-07-09
基金项目:国家科技部‘863’项目(2006AA100201);国家自然科学基金重大项目(30230230)
作者简介:张 英(1982-),女,陕西韩城人,硕士研究生,研究方向为作物高产生态生理研究。E-mail: zhangying_0430@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。
(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

品种为长武 134, 铜麦 3 号, 西农 794, 试验地土壤为壤土, 前茬休闲, 且土壤含水量少。采用随机区组排列, 试验小区面积 24.3 m^2 ($5.4\text{ m} \times 4.5\text{ m}$), 重复 3 次, 种植密度 67.5 kg/hm^2 , 播前以过磷酸钙为底肥, 施用量为 $1\,500\text{ kg/hm}^2$ 。于 2005 年 10 月上旬开沟带尺点播, 冬季不进行冬灌, 小麦拔节后遇雨及时遮盖直至成熟。田间管理按黄淮麦区品种比较试验要求进行。

1.2 测定项目及方法

在小麦开花期选择同一天开花、生长基本一致且无病虫害的小麦植株, 进行挂牌标记。从挂牌后第 7 天开始取样, 到成熟期每隔 6 d 每小区选取具有代表性的标记植株 5 株, 分叶位取有代表性的顶三叶各 5 片, 上午 8:00 取样, 所有样品及时放入冰壶带回实验室, 洗净叶片表面的尘土和污物, 用吸水纸小心擦干表面水分, 去除叶脉混匀, 测定各项指标。

1.2.1 叶绿素含量测定 分叶位将叶片剪碎混匀, 在分析天平上准确称取 0.08 g 样品, 设置 3 次重复, 置于 20 mL 具塞刻度试管中(各管先分别加入约 0.5 mL 纯丙酮), 用 80% 丙酮浸提叶绿素^[12], 样品完全变白后, 取出试管以 80% 丙酮作为空白调零, 在 645 nm 和 663 nm 波长下测定光密度, 按 Inskeep 法^[13] 计算其含量。

1.2.2 丙二醛含量 对照管中加入 1.5 mL 0.05 mol/L $\text{pH}7.8$ 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液, 在反应管中加入 1.5 mL 上述酶提取液, 各管分别加入 2.5 mL 0.5% 硫代巴比妥酸 (TBA) 溶液, 混匀, 混合物在 100°C 沸水浴上准确加热 20 min , 立即置于冰水浴中冷却。 $1800\times\text{g}$ 离心 10 min (或过滤), 在 450 、 532 和 600 nm 波长下, 以对照管作参比, 测定反应管的光密度^[14]。

1.2.3 活性氧保护酶活性 取 0.500 g 剪碎的样品, 置于预冷的研钵中, 加入 8 mL 含 1% PVP 的 50 mmol/L 冷磷酸缓冲液 ($\text{pH}7.8$) 及少量石英砂, 在冰浴中研磨提取, 匀浆于 2°C $20\,000\times\text{g}$ 冷冻离心 20 min , 上清液即为酶提取液。以 Beers 和 Sizars 改进法^[15] 测定过氧化氢酶活性, 用 Sigma 法^[13] 测定过氧化物酶活性。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel, DPS 统计软件进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 叶绿素含量的变化

由图 1 可知, 干旱条件下随小麦成熟的临近, 各

抗旱性小麦旗叶叶绿素含量先呈上升趋势后下降, 在小麦开花后第 14 天叶绿素含量达最高值, 其后逐渐降低。但不同品种其叶绿素含量变化的趋势存在很大的差异。开花后第 14 天, 西农 794 的叶绿素含量较高, 灌浆后期逐渐减少, 且相对其他几个品种降低速度最为缓慢, 临近成熟时还有少量绿叶存在, 而长武 134, 铜麦 3 号小麦叶片已全部干枯, 叶绿素含量已不能检出。

2.2 过氧化物酶 (POD) 活性的变化

由图 2 可知, 干旱条件下随小麦成熟的临近, 各抗旱性小麦旗叶过氧化物酶 (POD) 活性变化趋势基本一致, 均呈先上升趋势, 且在开花后第 14 天达到最大值, 其后逐渐降低。其中长武 134 在开花后 POD 活性最高, 但灌浆后期急剧降低, 而西农 794 的降低速度最慢, 并且在小麦临近成熟时, 旗叶中还有少量 POD 活性。表明抗旱品种西农 794 旗叶中过氧化物酶可有效消除活性氧的过度积累, 减缓过氧化物和活性氧对叶片的伤害, 延缓叶片衰老。

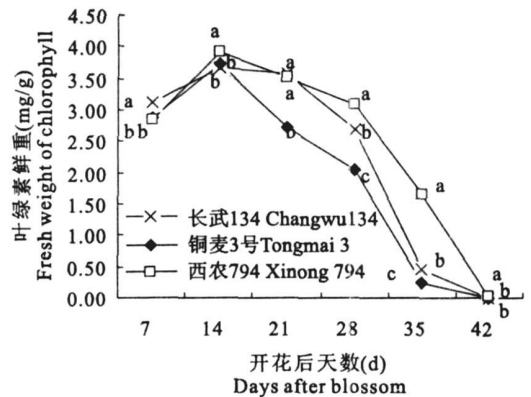


图 1 叶绿素含量的变化

Fig.1 Variance of chlorophyll content

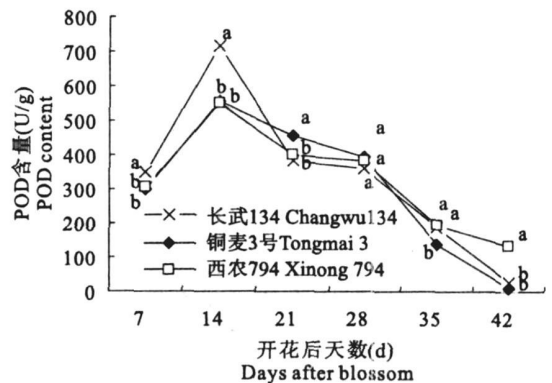


图 2 POD 活性的变化

Fig.2 Variance of POD activity

2.3 过氧化氢酶 (CAT) 活性的变化

图 3 表明, 干旱条件下小麦灌浆后期其旗叶中

CAT 活性与POD 活性变化趋势相似,亦呈先上升后下降的趋势,开花后第 14 天达最高值。灌浆前期长武 134 和铜麦 3 号CAT 活性较高,但灌浆后期急剧降低,而西农 794 的降低速度最慢,尤其在开花后第 21 天、35 天、42 天CAT 活性较其他两个品种均呈显著水平。表明在小麦灌浆过程中西农 794 过氧化氢酶活性降低较慢持续时间较长,清除过氧化氢的能力较其他两个品种要强。

2.4 丙二醛(MDA)含量的变化

由图 4 可知,随着植株衰老的加剧,各抗旱品种旗叶中丙二醛含量逐渐升高,且变化趋势一致。其中西农 794 旗叶中 MDA 含量增加最为缓慢且后期最低,长武 134 最快且后期最高。表明干旱条件下,抗旱品种西农 794 灌浆期间旗叶叶肉细胞中活性氧积累最慢,膜质过氧化程度低,细胞膜系统结构和功能受伤害程度轻。

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^[19]。Leshem 研究指出,叶片衰老最明显的表现就是叶绿素逐渐消失以及叶片最终脱落^[17]。从衰老过程中叶绿素超微结构的变化也可以看出叶绿体随年龄而逐渐解体,因而有人提出叶绿素分解是衰老的原发过程及衰老的真正指标^[18]。本试验通过对 3 个抗旱品种叶绿素含量的测定,可以得知抗旱品种西农 794 在小麦灌浆后期旗叶的衰老较长武 134 和铜麦 3 号缓慢,就有利于小麦籽粒干物质的积累。

过氧化物酶(POD)能清除植物体内的 H₂O₂,它的作用机理是通过催化 H₂O₂ 与其他底物反应以消耗 H₂O₂^[2]。从本试验中可知灌浆前期,长武 134 过氧化物酶活性较高,但灌浆后期急剧降低,而西农 794 的降低速度最慢,且在后期含量较长武 134 和铜麦 3 号都高。由此可看出在叶片衰老进程中,西农 794 活性持续时间最长,衰退时间最长,衰退进程启动最迟,过氧化物酶可有效消除活性氧的积累,减缓过氧化物和活性氧对叶片的伤害,延缓叶片衰老。

干旱条件下,小麦在灌浆期植物体内会产生更多的活性氧,机体为减少活性氧造成的伤害,应激地产生了更多的活性氧清除剂。H₂O₂ 是一种对植物细胞和组织既有一定生理作用又有一定毒害作用的活性氧,它与植物的衰老进程密切相关。目前认为,一般在干旱条件下植物的清除酶超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是清除 O₂⁻和 H₂O₂ 的主要物质。从本试验可以看出,干旱条件下小麦灌浆后期其旗叶中CAT 活性呈先上升后下降的趋势,开花后第 14 天达最高值。灌浆前期长武 134 和铜麦 3 号CAT 活性较高,但后期活性降低较西农 794 快,且低于西农 794。表明在小麦灌浆过程中西农 794 过氧化氢酶活性降低较慢持续时间较长,清除过氧化氢的能力较其他两个品种要强。

MDA 是过氧化产物的一种,它能强烈地与细胞内各种成分发生反应,因而引起酶和膜的严重损伤,膜电阻及膜的流动性降低,最终导致了膜的结构及生理完整性的破坏^[19]。华春等^[20]的研究也发现,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,但由于品种抗旱力的不同,MDA 含量增加的幅度不同。由本试验也可得知,长武 134 的 MDA 含量增加幅度最大,说明植株膜质过氧化程度越高,细胞膜系统结构和功能受伤害程度重,植株衰老程

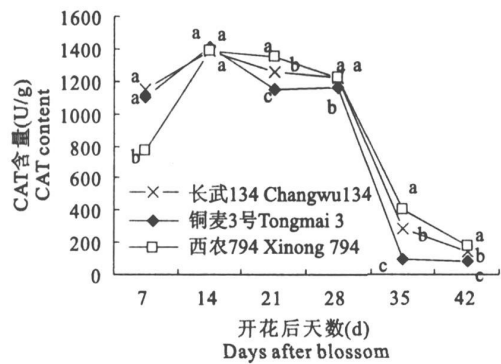


图 3 CAT 活性的变化

Fig. 3 Variance of CAT activity

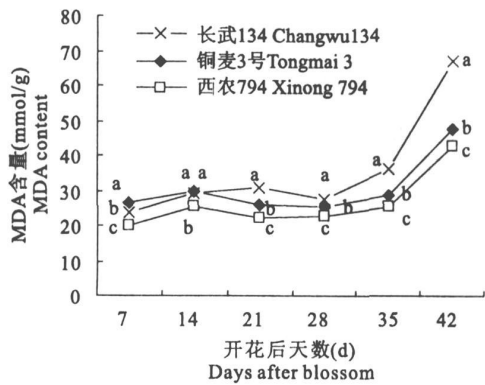


图 4 MDA 含量的变化

Fig. 4 Variance of MDA content

(注:图 1~图 4 数据为 3 次重复的平均值,利用新复极差法进行方差分析,不同小写字母表示差异达 5% 显著水平)。

(Note: Data 1 ~ 4 mean $\pm$ SE ($n = 3$); Different letters indicate significant difference at 5% probability level by LSR method.)

度越大,抗旱力较其他两个品种弱;西农 794 的 MDA 含量增加幅度较低,植株衰老较慢,抗旱力最强。因此,在生产实践中,研究不同的抗旱品种的抗旱力,建立抗旱小麦叶片衰老的鉴定的指标体系,对提高小麦籽粒产量和品质具有重要的指导意义。

参 考 文 献:

- [1] 姜春明,尹燕桦,刘霞,等.不同耐热性小麦品种旗叶膜脂过氧化和保护酶活性对花后高温胁迫的响应[J].作物学报,2007,33(1):143—148.
- [2] 李名迪,魏冬,颜满莲,等.水稻叶片的活性氧代谢及衰老调控[J].江西农业学报,2005,17(4):112—116.
- [3] 李向东,王晓云,张高英,等.花生叶片衰老与活性氧代谢[J].中国油料作物学报,2001,23(2):31—32.
- [4] 王建国.玉米叶片衰老研究概况[J].安徽农学通报,2006,12(13):96—97.
- [5] 冯晴,徐朗莱,叶茂炳,等.小麦叶片衰老过程中 CAT 和 APX 活力及其同工酶谱的变化[J].南京:南京农业大学出版社,1997,20(2):95—99.
- [6] 张治礼,郑学勤.油菜叶片自然衰老过程中部分生理指标的变化规律[J].中国油料作物学报,2004,26(2):47—50.
- [7] 林植芳,李双顺,林桂珠,等.水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J].植物学报,1984,26(6):605—615.
- [8] 曹显祖,朱床森,顾自奋.关于杂交水稻结实率的研究[J].江苏农业科学,1981,(1):1—7.
- [9] 宋松泉,傅家瑞.杂交水稻叶片衰老与膜脂过氧化作用的关系[J].中山大学学报论丛,1995,(1):15—19.
- [10] 刘道宏.植物叶片的衰老[J].植物生理学通讯,1983,(2):14—19.
- [11] 陈少裕.膜脂化对植物细胞的伤害[J].植物生理学通讯,1991,27(2):84—90.
- [12] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版社,2000.101—103.
- [13] 苏正淑,张宪政.几种测定植物叶绿素含量方法的比较[J].植物生理学通讯,1989,(5):77—78.
- [14] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Arch Biochem Biophys, 1968, 125:189—198.
- [15] 钱嘉渊译.施特马赫B.酶的测定方法[M].北京:中国轻工业出版社,1992.186—194.
- [16] Martinc, Thl mannkv. The role of protein synthesis in the senescence of leaves[J]. Plant Physiol, 1972, 49:64—71.
- [17] Leshem Y Y. Oxygen free radicals and plant senescence[J]. Wheat, News in Plant Physiol, 1981.1—4.
- [18] 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.
- [19] Scandal, Ios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. Plant, 1993, 101:7—12.
- [20] 华春,王仁雷.杂交稻及其三系叶片衰老过程中SOD—CAT 活性和MDA 含量的变化[J].西北植物学报,2003,23(3):406—409.

Research on the flag leaf senescence and activate oxygen metabolism of drought resistant wheat in filling stage

ZHANG Ying, FENG Bai li *, YU Huan, GAO Xiao li, WANG Peng ke, LI U Peng tao

(College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract : The exhibition and characteristic of the flag leaf senescence and reactive oxygen metabolism of three kinds of drought resistant wheat, such as Changwu 134, Tongmai 3, Xinong 794, are studied in the arid condition. The result shows that the flag senesce and reactive oxygen metabolism of wheat in filling stage vary from different drought resistant varieties. Compared with Changwu 134 and Tongmai 3, the chlorophyll content of Xinong 794 is higher and has a relatively slow decreasing tendency. In 14 days after blossom, the activities of peroxide (POD) and the catalase (CAT) are higher, but which reduces quickly in the later period. The activities of two enzymes of Xinong 794 are higher in the later filling stage, and they reduce slowly and keep relatively longer time. In the whole filling stage, the content of malondialdehyde (MDA) of Xinong 794 is the least, of which the extent of the membrane peroxide is the lowest, the same as the degree of the leaf senescence.

Key words : drought resistant variety; filling stage; leaf senescence; activate oxygen metabolism