

棉花不同叶位主茎叶衰老特征的研究

刘连涛, 李存东, 孙红春, 张海娜, 冯丽肖

(河北农业大学棉花研究所, 河北保定 071001)

摘要:在大田条件下,研究了棉花不同叶位主茎叶在盛铃末期的衰老状况。以转基因抗虫棉 33B 为材料,测定全部主茎叶的主要生理生化指标,以分析不同部位叶片衰老的差异。结果表明,(1)盛铃末期是主茎功能叶片从旺盛生理功能到衰老的转折时期;(2)从主茎上部第 1 叶到下部的第 10 叶叶绿素含量、蛋白质含量、SOD 活性呈下降趋势,MDA 含量、POD 活性呈上升趋势;(3)盛铃期调控棉花叶片的衰老应以主茎中部轻度衰老叶片为诊断和调控主体。

关键字:棉花;不同叶位;叶片衰老;生理效应

中图分类号:S562.01 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2008)02-0123-05

Studies on the Characteristics of Leaf Senescence at Different Stem Positions of Cotton

LIU Lian-tao, LI Cun-dong, SUN Hong-chun, ZHANG Hai-na, FENG Li-xiao

(Cotton Research Institute of Hebei Agricultural University, Baoding 071001 China)

Abstract: In recent years, with the generalization of transgenic cotton, premature senescence is aggravated, which has become a main factor for the production of cotton. Characteristics of leaf senescence for main stem of different positions were studied in the later full boll stage of cotton in the field. With Bt-transgenic cotton 33B as experimental plant, by researching into the change trends of contents of chlorophyll and MDA in functional leaves on main stem in the whole growing period, the turning point from blooming to senescence was found in 2005. Hereby in 2006 the physiological characteristics (Chlorophyll, Protein, MDA, SOD, POD) of all leaves at the different stem positions on the cotton plant were researched into in the turning period, and then the differences in senescence between leaves were analyzed. The results showed, (1) The turning point from blooming to senescence is at the later full bolling stage; (2) The Chl content, Pro content and SOD activity decreased with the change of leaf position from stem top to bottom, while the MDA content and POD activity increased; (3) All of the main stem leaves can be separated into three parts on the basis of physiological index changes: bloom leaves (the first leaf and the second leaf on the top), light senescence leaves (the third leaf to the eighth leaf), heavy senescence leaves (the ninth leaf and the tenth leaf), (4) The middle leaves (light senescence leaves) should be mainly diagnosed and regulated at the full bolling stage, which can postpone the leaf senescence, even the whole plant senescence.

Key word: cotton, different position stem leaf, leaf senescence, physiological effect

随着转基因棉花的大面积推广,棉花早衰发生加重,已经成为影响棉花生产的重要因素。棉

花早衰一般导致产量损失 10%左右,严重早衰的产量损失达 20%以上^[1]。叶片是棉花最重要的

收稿日期:2007-05-15 作者简介:刘连涛(1980-),男,硕士,liultday@126.com。* 通讯作者,nxylcd@mail.hebau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(30370833),河北省自然科学基金(C2006000436,303179),高等学校博士学科点专项科研基金(20050086003)

源器官,棉花全株干物质的90%以上源于叶片,叶片衰老过早和过晚都会对棉花产量和品质造成不利影响^[2]。因此,研究棉花叶片衰老机制具有重要的理论与实践意义。棉株上不同叶位叶片由于出现时间的不同,其叶龄及相应的叶片活力有差异。通常,叶位从顶部到下部,叶片的活力呈现一种升高至最高值然后下降或顺序下降的趋势,这往往与植物种类及叶片的生活期长短有关^[3]。目前关于棉花早衰生理的研究主要集中在主茎功能叶衰老的生理特征研究方面^[4-6],有关大田条件下棉花不同叶位主茎叶衰老差异的研究较少。本试验研究了棉花不同叶位主茎叶衰老的差异,以期加深对棉株衰老规律的认识,并为制定延缓棉花叶片衰老技术措施提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验于2005—2006年在河北农业大学教学实验站进行,供试品种为新棉33B。试验地前茬为玉米,土壤为粘质壤土。有机质含量为1.213%,全N为0.128%,速效P为20.46 mg·kg⁻¹,速效K为102.95 mg·kg⁻¹,碱解N为55.3 mg·kg⁻¹。种植密度为5.33万株·hm⁻²。小区面积为91 m²,田间管理同常规棉田。

1.2 取样

2005年,从7月15日起取主茎功能叶(倒4叶),截止到9月15日,每隔10天取样一次,打顶后依次取倒3叶、2叶、1叶。测定蛋白质、丙二醛(MDA)含量。根据2005年数据分析,确定叶片从生理功能旺盛到衰老的转折时期。2006年在转折时期(盛铃末期,8月14日),于上午9:00选择生长一致、代表性较好的6株棉株,分别取其全部主茎叶(一般为10片叶),并标记最上部叶片为第1叶位,依次向下,测定各叶叶绿素、蛋白质、丙二醛(MDA)含量、SOD活性和POD活性。

1.3 生化测定

叶绿素含量的测定:采用改进的赵世杰的方法^[7]。95%酒精浸泡至叶片完全失绿,在665 nm,649 nm,470 nm波长下比色测定。

可溶性蛋白质含量测定:参照Read等^[8]考马斯亮蓝法测定,用样量根据实际情况稍做改动,在595 nm波长下比色测定。

MDA含量的测定:参照赵世杰的方法测定丙二醛(MDA)含量^[7],在600 nm、532 nm、和450

nm波长下比色测定。

SOD活性、POD活性的测定:参照Cakamsk等的方法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化物酶(POD)活性,其中,以光化还原50%氮蓝四唑(NBT)为一个SOD酶活性单位^[9]。

以上比色均用日立UV2001紫外分光光度计比色测定。

所有数据处理采用Excel 2003整理数据和作图,DPS2.0进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同时期主茎功能叶叶绿素和丙二醛含量的变化

随着叶片的衰老,叶绿素逐渐降解,叶色变黄^[10],叶绿素含量降低越快,表明叶片衰老越快。由图1可知,主茎功能叶叶绿素含量从7月15—25日略有上升,之后开始下降,但在8月5—14日保持平稳,8月14日以后开始持续下降。

丙二醛(MDA)是反映膜质过氧化程度的重要指标,在衰老的过程中不断积累。离体状态下MDA含量也随衰老的加深而上升^[11]。从图1可以看出主茎功能叶从7月15日到8月14日变化不大,保持比较稳定的水平,8月14日之后开始迅速上升,达到显著性水平。

由以上结果可知,8月14日之后叶绿素含量开始迅速下降,MDA含量开始迅速升高。综合分析表明,8月14日(盛铃末期)是棉株一生中主茎功能叶开始衰老的转折时期。

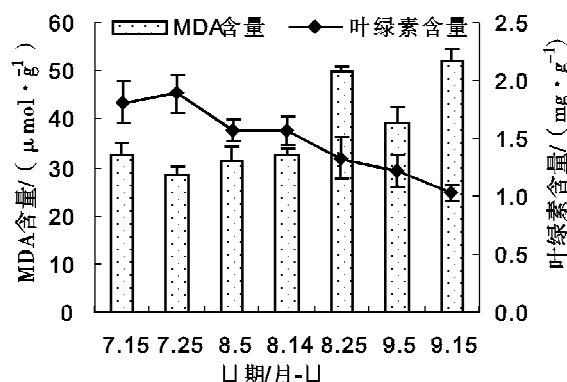


图1 不同时期主茎功能叶叶绿素和丙二醛含量的变化动态

Fig. 1 The dynamic changes of chlorophyll and MDA content of function leaf under different dates

2.2 盛铃末期不同叶位主茎叶叶绿素含量的变化动态

由图 2 可知,盛铃末期主茎顶部第 1~2 叶叶绿素含量相近。从第 3~8 叶呈缓慢下降趋势,从第 8 片叶片开始到第 10 叶迅速下降。第 1~2 叶同第 4 叶位及以下各叶片之间的差异达到了极显著性差异,第 1 和第 3 叶间达到了显著性差异;第 9~10 叶与其上部各叶片间的差异也达到了极显著性差异。

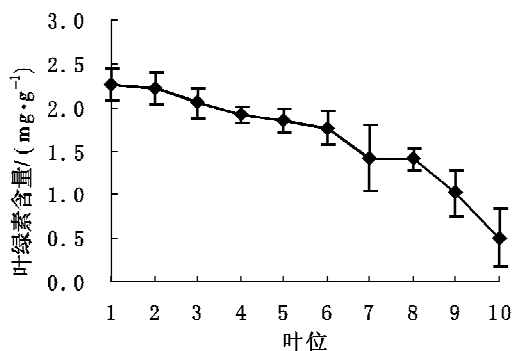


图 2 不同叶位主茎叶叶绿素含量的变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll content in different leaves on main stem

2.3 盛铃末期不同叶位主茎叶可溶性蛋白质含量的变化动态

在叶片衰老过程中蛋白质水解应看作是主要的反应^[12]。由图 3 可知,在本试验条件下,从主茎叶第 1~3 叶位呈快速下降趋势;从第 3~9 叶总体上相对稳定;第 9 叶以后下降较快。第 1~2 叶位与第 3、6 叶以下的叶位间的差异达到了显著性差异,第 1 与第 4、5 叶间也达到了显著性差异。从第 6~10 叶位,各叶位间没有达到显著性差异。

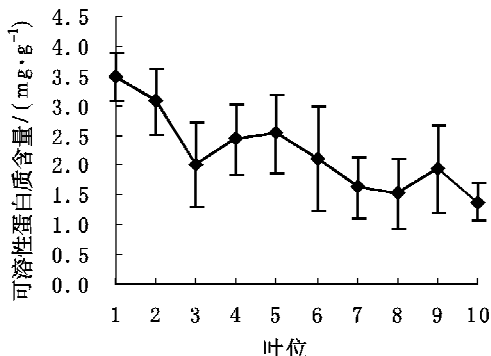


图 3 不同叶位主茎叶可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 3 Changes of dissolvable protein content in different leaves on main stem

2.4 盛铃末期不同叶位主茎叶丙二醛含量的变化动态

由图 4 可知,从第 1~3 叶 MDA 含量呈上升

趋势;从第 3~8 叶呈缓慢下降趋势;从第 8~10 叶呈快速升高趋势。不同叶片 MDA 含量的变化趋势与叶绿素含量和蛋白质含量呈负相关。方差分析结果显示,第 1 叶位和第 3、4、5 叶位间达到了显著性差异水平,第 10 叶位与其上部叶位间的差异也达到了显著性差异。

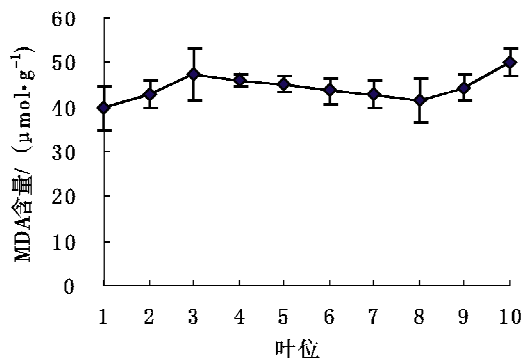


图 4 不同叶位主茎叶 MDA 含量的变化

Fig. 4 Changes of MDA protein content in different leaves on main stem

2.5 盛铃末期不同叶位主茎叶 SOD 活性变化动态

超氧化物歧化酶(SOD)是植物体内清除活性氧的关键酶。SOD 对细胞起到有效的保护作用,其活性的高低可视为植物体自身清除有害物质能力的强弱,标志着叶片衰老程度^[13]。由图 5 可知,从第 1~3 叶 SOD 活性变化不大,从第 3~5 叶迅速下降,从第 5~10 叶呈缓慢下降趋势。方差分析结果显示:第 1、2、3 叶位与第 5 及其以下叶位间的差异达到了显著性;第 5 及其以下叶位间未达到显著性差异。

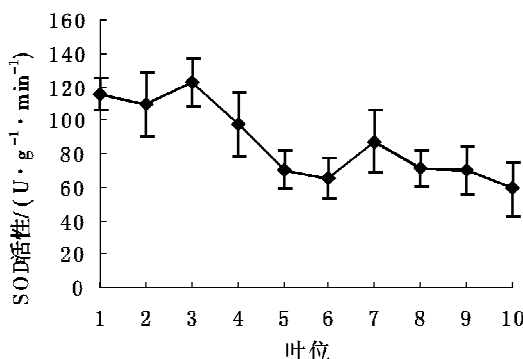


图 5 不同叶位主茎叶 SOD 活性的变化

Fig. 5 Changes of activities of SOD in different leaves on main stem

2.6 盛铃末期不同叶位主茎叶 POD 活性变化动态

过氧化物酶(POD)是植物体内清除过氧化物,降低活性氧伤害的主要酶类之一。它能在氧化相应基质(如酚类化合物)时清除低浓度的

H₂O₂^[14]。由图6可知,从第1~10叶POD活性总体呈升高趋势。第1、4叶位及以下叶位间的差异达到了显著性水平,第2~4叶位间没有达到显著差异,第9、10叶位与其上部各叶位间的差异达到了显著性水平。

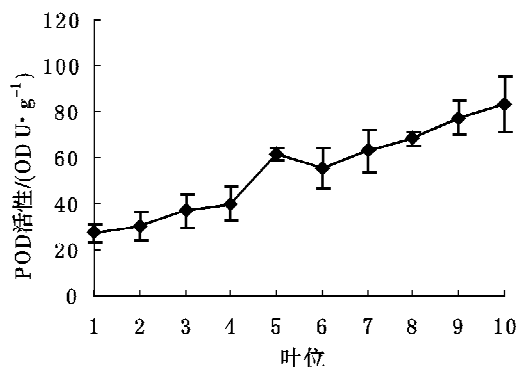


图6 不同叶位主茎叶POD活性的变化

Fig. 6 Changes of activities of POD in different leaves on main stem

2.7 相关性分析

通过对不同叶位主茎叶衰老指标作相关分析,结果表明,叶绿素含量与蛋白质含量、SOD活性呈正相关关系,相关系数(r)分别是0.800**、0.763*;与MDA含量和POD活性呈负相关关系,相关系数(r)分别是-0.503, -0.933**;蛋白质含量与POD呈负相关关系,相关系数(r)为-0.808**;SOD与POD呈负相关关系,相关关系(r)为-0.889**。

3 结论与讨论

根据2005年的试验结果,从主茎功能叶的叶绿素含量和MDA含量的变化趋势,得出在本试验条件下,盛铃末期为主茎功能叶片从生理功能旺盛到衰老的转折时期。据此,于2006年在盛铃末期取样,测定主茎所有叶片叶绿素、蛋白质和MDA含量以及SOD、POD活性,得出以下结论:从上部第1叶位到下部的第10叶位叶绿素、蛋白质含量和SOD活性总体呈下降趋势;MDA含量呈上升趋势,但主茎上、中、下三个部位的叶片分别表现不同特征,表明随叶龄的增加叶片衰老呈现阶段性变化规律。

在植物叶片衰老过程中,SOD是活性氧清除酶之一,它可以催化O₂^{-·}分解成H₂O₂,进一步由过氧化物酶代谢为无生理毒性的物质,本试验得出,上部3个叶片保持较高活性,从第4个叶片开始呈快速下降趋势,由此可得出盛铃末期从主

茎第4叶片开始明显表现衰老特征。

POD的作用具有双重性^[15-18],它能够清除H₂O₂,是保护酶系统的成员;另外,它参与叶绿素的降解和活性氧的产生,并能引起膜脂过氧化,表现为伤害效应。由本试验得出,从第1~10叶片POD活性一直呈上升趋势,第10叶位活性是最上部叶片的3倍。

综合分析盛铃末期不同叶位主茎叶生理生化特征,并根据方差分析结果,可以将它们的衰老程度分为三种类型,分别是:(1)未衰老叶片(第1、2叶位叶片)。这个部位叶片叶绿素、蛋白质含量和SOD活性保持较高水平,MDA含量较低,表明叶片的生理功能仍然较旺盛;(2)轻度衰老叶片(第3~8叶位叶片)。这个部位叶片叶绿素、蛋白质含量和SOD活性已缓慢下降,MDA含量已较高,POD活性上逐步上升;(3)严重衰老叶片(第9和10叶位叶片),叶绿素、蛋白质含量和SOD活性已大幅度下降,MDA含量和POD活性迅速上升,表明整个叶片的功能严重下降。

棉株中部是结铃的主体部位,需要主茎叶片大量的营养输出,这就需要主茎叶片有较强的生理功能和较长的功能时期,所以对该部位叶衰老进程的调控具有重要意义。本研究表明,一般棉田主茎中部叶在盛铃末期已表现衰老症状,因此高产管理中应以延缓盛铃期主茎中部叶片衰老为主攻目标,通过维持这部分叶片的生理功能,防止棉株早衰,实现高产优质。

参考文献

- [1] WRIGHT P R. Premature senescence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) - Predominantly a potassium disorder caused by an imbalance of source and sink [J]. *Plant and Soil*, 1999, 211(2): 231-239.
- [2] 段留牛,何钟佩. DPC对棉花叶片发育及活性氧代谢的影响[J]. *棉花学报*, 1996, 8(6): 312-315.
- [3] 彭长连,林植芳,林桂珠. 玉米不同叶位叶片对光氧化的敏感性简报[J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(1): 30-32.
- [4] 喻树迅,范术丽,原日红,等. 清除活性氧酶类对棉花早熟不早衰特性的遗传影响[J]. *棉花学报*, 1999, 11(2): 100-105.
- [5] 刘灵娣,李存东,孙红春,等. 干旱对棉花片碳水化合物代谢的影响[J]. *棉花学报*, 2007, 19(2): 129-133.
- [6] 沈法富,喻树迅,范术丽,等. 棉花叶片衰老过程中激

- 素和膜脂过氧化的关系[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(6): 589-592.
- [7] 赵世杰. 叶绿素的定量测定[A]. // 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000, 72-75.
- [8] READ S M, Northcote D H. Minimization of variation in the response to different protein of the Coomassie Blue G dye binding: assay for protein[J]. Anal Biochem, 1981, 116: 53-64.
- [9] CAKAMSK I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves[J]. Plant Physiol, 1992, 98: 1222-1227.
- [10] 李付广. 双价基因抗虫棉生理生化特征研究[J]. 棉花学报, 2003, 15(3): 131-137.
- [11] 喻树迅, 黄祯茂, 姜瑞云, 等. 几个短季棉品种叶片衰老特征的研究[J]. 棉花学报, 1994, 6(增刊): 31-35.
- [12] 张丽欣. 四种菜叶衰老期间呼吸、乙烯产生、IAA 和过氧化物酶的变化及其相互关系[J]. 植物生理学报, 1988, 14(1): 81-87.
- [13] 魏道智, 宁书菊. 叶部激素变化与小麦的整体衰老[J]. 广西植物, 2002, 22(4): 382-384.
- [14] 杨淑慎, 高俊凤, 李学俊, 等. 杂交春性小麦叶片衰老与保护酶系统活性的研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(3): 460-463.
- [15] 许长成, 邹琦, 程炳嵩. 杂交水稻开花结实期间叶片衰老[J]. 植物生理学报, 1991, 19(3): 216-220.
- [16] 张海娜, 李存东, 肖凯. 外源 6-BA 对棉花光合和叶片衰老特性的调控效应研究[J]. 棉花学报, 2007, 19(6): 467-471.
- [17] 董合忠, 李维江, 唐薇, 等. 棉花生理性早衰研究进展[J]. 棉花学报, 2005, 17(1): 56-60.
- [18] 宋美珍, 喻树迅, 范术丽, 等. 早熟不早衰短季棉品种(系)及其杂交后代抗氧化酶系统活性变化[J]. 棉花学报, 2006, 18(1): 63-64. ●