

## 研究报告 Original Papers

## 激动素和丁二酸拌种对玉米衰老过程中抗氧化系统和植物激素的影响

邵瑞鑫, 李健, 赵宇, 李锦锦, 杨青华\*

河南农业大学农学院, 郑州450002

**摘要:**以‘郑单958’(晚衰型品种)和‘豫单2002’(早衰型品种)为实验材料,采用盆栽方式,0.03  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的外源激动素(KT)和300  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 丁二酸复合剂进行拌种处理,研究拌种后玉米根叶衰老指标的变化及其化学调控效应。结果表明:激动素和丁二酸混合拌种后根系与叶片中超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )产生速率、丙二醛(MDA)及脱落酸(ABA)含量低于其对照,而超氧化物歧化酶(SOD)活性和生长素(IAA)含量却较高,据此认为膜脂过氧化得到缓解,根叶的生理功能期延长;且在整个生育期内各个叶位叶的MDA含量、SOD活性、ABA和IAA含量高于根系,但其 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和IAA/ABA较低,表明根系的衰老早于叶片。综上可以推测,激动素和丁二酸拌种能有效防止根叶早衰,为提高玉米产量打下基础。

**关键词:**玉米;衰老;激素;保护酶;植物生长调节剂

## Effect of Kinetin and Succinic Acid Seed Dressing on the Antioxidant System and the Endogenous Plant Hormones in Aging Process of Maize

SHAO Rui-Xin, LI Jian, ZHAO Yu, LI Jin-Jin, YANG Qing-Hua\*

Agronomy College, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:** The root and leaf senescence parameters and their regulation measures were studied by exogenous kinetin (KT) ( $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and succinic acid ( $300 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) seed dressing for two corn genotypes in pot experiment. The results showed that the production rate of  $\text{O}_2^{\cdot-}$  and the content of MDA and ABA of plant leaves and roots with KT and succinic acid seed dressing were lower, but their superoxide dismutase (SOD) activity and IAA content were higher than control treatment. The SOD activity, the content of malondialdehyde (MDA), ABA, and IAA of 14<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup> leaves increased more than their roots, but the  $\text{O}_2^{\cdot-}$  rate and IAA/ABA decreased, which resulted in premature senescence of roots compared to leaves in the whole growth period. In summary, it could be speculated that KT and succinic acid seed dressing can extend the period of physiological functions and effectively prevent premature of roots and leaves to lay the foundation to improve the yield of maize.

**Key words:** maize; senescence; hormone; protective enzymes; plant growth regulator

玉米(*Zea mays* L.)生长发育期间容易受到高温、干旱或渍水等逆境的胁迫,但由于逆境能诱导叶片产生过量超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )和过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )之类的活性氧(ROS)积累(程艳丽和宋纯鹏2005),进而引发或加剧膜脂过氧化作用,而丙二醛(MDA)可使蛋白质交联而变性失活,细胞膜系统的结构和功能发生劣变,新陈代谢紊乱(Hong等2000)。同时,植物通过改变植物激素水平及各植物激素间的平衡关系从而调节生理代谢过程。氧自由基的伤害与植物激素水平的改变直接影响到植物的衰老进程(阎成士等1999)。但是为了清除ROS,植物体内进化出了抗氧化物系统,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)是抗氧化系统中3种重要的保护性酶,这些

抗氧化酶有利于植物维持体内活性氧产生和淬灭的动态平衡,从而抑制膜质氧化的进程。一般认为,脱落酸(ABA)和乙烯具有促进植物衰老的作用,而细胞分裂素(CTK)和生长素(IAA)则可延缓衰老,并且CTK和乙烯具有拮抗作用,导入外源CTK调控植物生理过程的表达是防治早衰的途径之一(Xie等2003)。大量实验证明根系不仅是吸收养分和水分的重要器官,也是合成CTK和ABA等一些重要植物激素类物质的主要部位(Ruan等

收稿 2011-12-19 修定 2012-02-03

资助 河南省科技创新人才计划支持项目(114100510019)。

\* 通讯作者(E-mail: yangqh2000@163.com; Tel: 0371-63555778)。

2009)。而且叶片衰老必然与根系生理活性的变化密切相关,因此保持生育后期较高的根系活力及叶片功能可防止植株早衰的发生(杨文钰等2005)。通过叶面喷施抗旱衰剂可延缓叶片光合功能衰退,并调节根系的生理功能,从而防止生理早衰提高产量(谢祝捷等2004;郑圣先等2006)。丁二酸是植物呼吸代谢的中间产物,能刺激植物生长发育,目前也作为植物生长调节物质,通过浸种增强了叶片的抗氧化酶活性,引起 $H_2O_2$ 的积累减少(杨青华等2009),改善植株生育后期的光合能力(马兴立等2010),从而延缓叶片衰老。但是以往对玉米抗氧化系统变化的研究多侧重于叶片抗氧化系统和ROS含量的变化,而研究根系酶系统的变化未见报道。本文比较分析了不同衰老类型玉米品种根叶的抗氧化系统和植物激素的变化和差异,通过激动素(外源CTK)和丁二酸复合调节剂拌种,研究其对玉米衰老过程中ROS、抗氧化酶活性和植物激素含量等生理指标的影响,为拌种技术在玉米生产上的应用提供理论依据。

## 材料与方法

试验于2009~2010年在河南农业大学科教园区进行。采取盆栽试验,土壤取于大田耕层,混匀过筛,塑料盆高30 cm,内径45 cm,每盆装风干土20 kg。选取2个不同基因型的玉米(*Zea mays* L.)品种‘郑单958’(晚衰型品种)和‘豫单2002’(早衰型品种),播种前进行拌种处理。根据前期不同浓度激动素(kinetin, KT)和丁二酸(succinic acid)拌种处理的筛选试验,配成复合拌种剂,主要由 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的KT和 $300 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的丁二酸复合而成(图中简写拌种)。每kg种子用拌种剂125 mL,清水作为对照(图中简写为不拌种)。每处理3次重复,每重复种植20盆,每盆定苗1株。每年6月9日播种,每盆施20 g复合肥(N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O=16:16:16)做基肥,播前浇透水,出苗后保证水分供应并及时防除病虫草害。试验盆埋置于田间,盆中玉米为等行距60 cm,以缩小盆栽与大田栽培的环境差异,其他管理同一般高产田。选择玉米植株的第14叶和第18叶作为测定对象。在各叶位叶片全展时进行第1次测量,以后按各节位叶片自全展10 d(第2次)、叶尖出现枯黄(第3次)、1/2叶片发生枯黄(第4次)进行取样测定。在

进行地上部取样时,同时进行地下部分冲洗根部,取气生根作为测定对象。

$O_2^-$ 和MDA含量的测定参照张志良(1990)的羟胺氧化法。SOD活性用NBT还原法(李合生2000)测定,以抑制NBT光还原50%的酶液为一个活力单位来计算SOD酶活性。

植物激素含量的测定,采用酶联免疫吸附测定法(ELISA),试剂盒由中国农业大学提供。每个样品重复测定3次。

## 实验结果

### 1 玉米叶片与根系中 $O_2^-$ 的产生速率

从图1、2可以看出,根系和叶片中 $O_2^-$ 的产生速率均随生育期推进而逐渐升高,两品种上升快慢不同,‘郑单958’的 $O_2^-$ 产生速率较低,在叶尖开始枯黄期和1/2叶片枯黄期差异明显,‘豫单2002’上升幅度较大;KT+丁二酸复合剂拌种处理后根系和叶片中 $O_2^-$ 的产生速率均显著低于各自对照,且减缓了其上升幅度,叶尖枯黄期和1/2叶片枯黄期差异明显,说明晚衰型品种根叶中 $O_2^-$ 的产生速率低,拌种能够降低各叶位叶片及其根系 $O_2^-$ 累积,拌种有效地防止了根叶早衰。与叶片相比,根系 $O_2^-$ 产生速率较高,且上升较快。

### 2 玉米叶片与根系中SOD活性的变化

图3和图4表明,根系和叶片中SOD活性在叶片全展后10 d达到最高值,其后开始下降。不拌种的两个品种间第14叶没有明显差异,但第18叶在叶片衰老时具有显著变化,拌种提高了各叶位叶与根系的SOD活性,减缓其下降幅度,在叶尖开始枯黄和1/2叶片枯黄时差异明显;根叶间比较,根系SOD活性下降幅度比叶片明显,且在1/2叶片枯黄时差异达到显著水平,说明由于根系SOD活性迅速降低引起叶片SOD活性的下降,晚衰型品种与拌种处理根叶中SOD活性强,能有效地防止ROS对质膜的伤害,延长根叶生育期;品种间比较,‘郑单958’的根叶SOD活性较高,易于维护叶片和根系生理活性。

### 3 玉米叶片与根系中MDA含量的变化

MDA是膜脂过氧化产物,其含量的高低反映了细胞膜脂过氧化的水平。由图5、6可看出,叶片和根系MDA含量变化呈现逐渐增加趋势。拌种

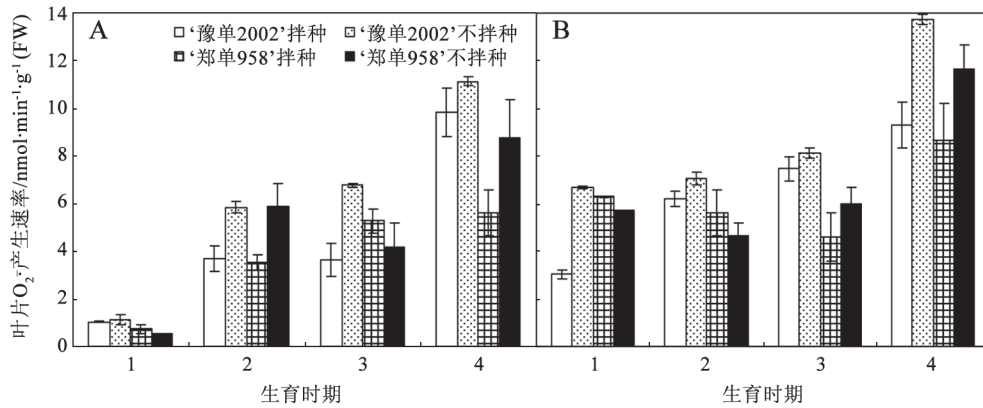


图1 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期叶片O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率变化

Fig.1 Change of leaf O<sub>2</sub><sup>-</sup> production rate at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf  
生育时期1、2、3、4分别代表第14或18叶位叶片全部展开、叶片全展后10 d、叶尖出现枯黄、1/2叶片出现枯黄; 下图同。

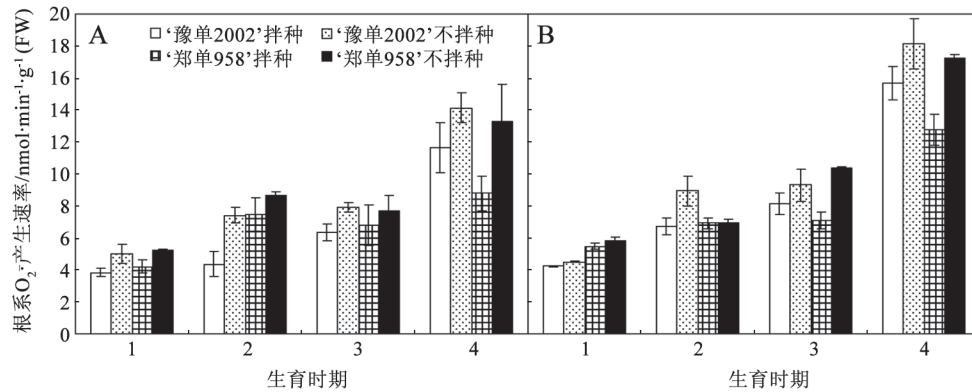


图2 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期根系O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率变化

Fig.2 Change of root O<sub>2</sub><sup>-</sup> production rate at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

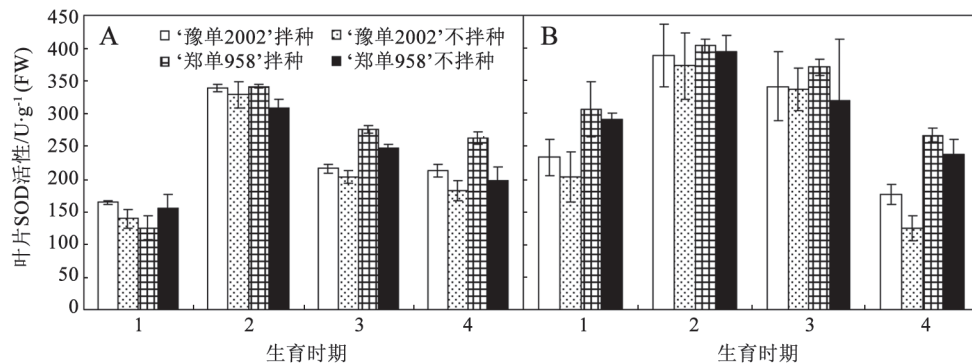


图3 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期叶片SOD活性变化

Fig.3 Change of leaf SOD activity at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

降低了整个生育时期各叶位叶片和根系中的MDA含量, 从而减轻细胞膜脂过氧化程度, 防止根叶早衰; 与根系相比, 各叶位叶片在整个生育期内MDA含

量水平高于根系, 说明根系后期衰老加速了叶片的衰老; 两品种间比较, ‘豫单2002’的根叶MDA含量较高, 在叶片全展期两品种间无明显差异, 但在叶

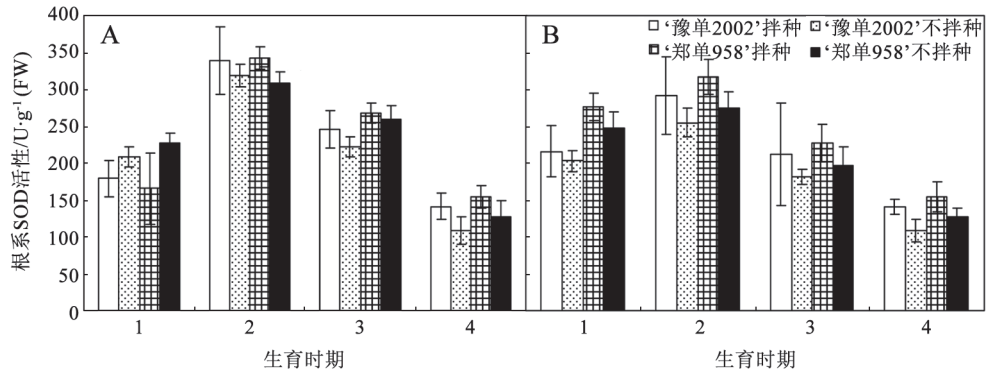


图4 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期根系SOD活性变化

Fig.4 Change of root SOD activity at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

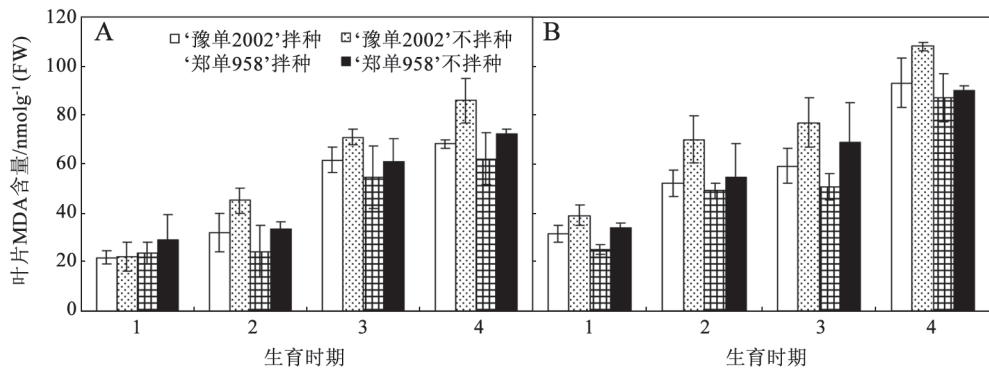


图5 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期叶片MDA含量变化

Fig.5 Change of leaf MDA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

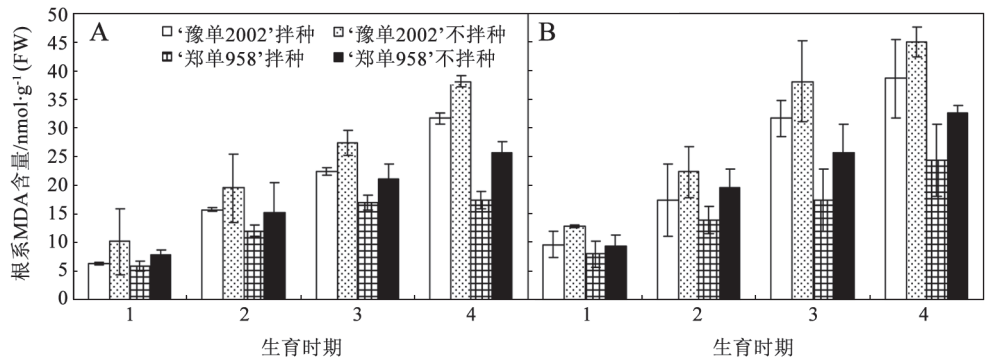


图6 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期根系MDA含量变化

Fig.6 Change of root MDA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

尖出现枯黄和1/2叶片枯黄期差异达到显著水平,说明‘豫单2002’根叶细胞膜易受到膜脂过氧化。

#### 4 玉米叶片与根系中IAA和ABA含量的变化

IAA具有促进植物生长和延缓衰老的功效。玉米根叶IAA含量均表现出先升高而后降低的趋

势(图7、8),各个叶位叶IAA含量均在叶尖开始枯黄期达到最大值,14叶位根和18叶位根IAA含量峰值分别出现在叶片全展后10 d和叶尖出现枯黄时,而18叶位叶片与根系表现出根系的IAA含量下降早于叶片;拌种能显著增加第18叶根及第14叶位



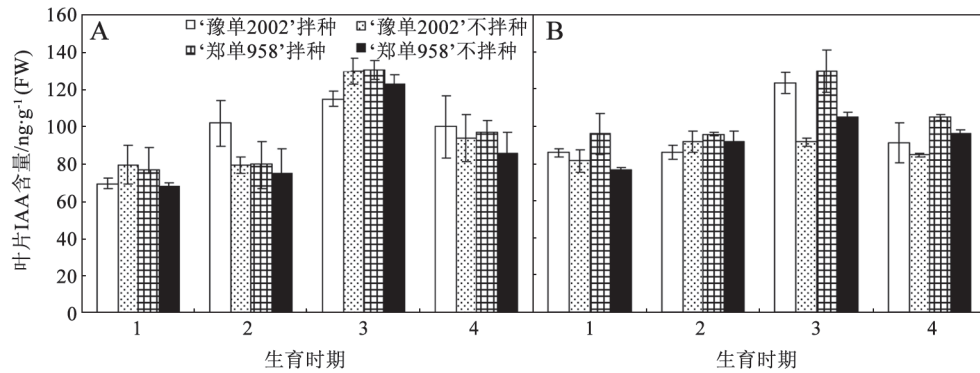


图7 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期叶片IAA含量变化

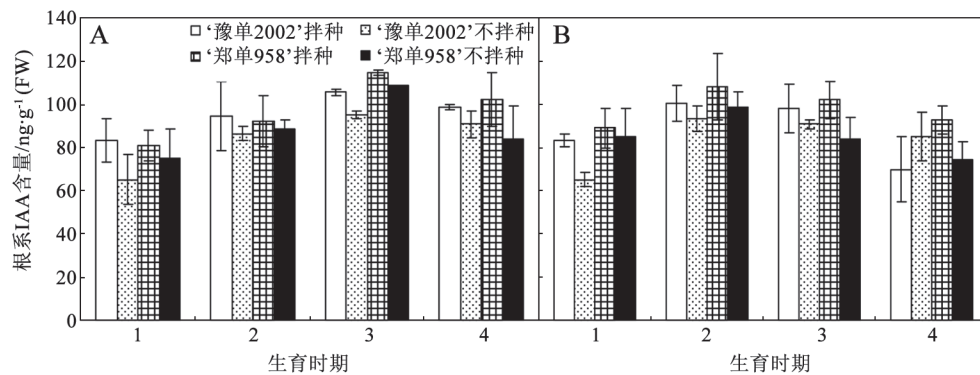
Fig. 7 Change of leaf IAA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

图8 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期根系IAA含量变化

Fig. 8 Change of root IAA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

根在叶尖枯黄和1/2叶片枯黄时的IAA含量,而对第14叶位叶片整个生育期及第18叶叶片全展后10 d的影响没有达到显著差异水平;品种间比较,‘郑单958’的IAA含量高于‘豫单2002’,其叶片在生育前期差异不显著,而根系间差异显著,根部IAA下降较早可能是其易早衰的原因。

ABA能够促进植株的衰老。图9、10显示玉米根叶中ABA含量也呈现先升高而后降低的趋势,峰值同样出现在叶尖枯黄期。拌种不但能显著降低各叶位叶及根中后期的ABA含量,且增加了IAA/ABA的比值(数据未列出),说明ABA及IAA/ABA可能与植株衰老有关;与叶片相比,根系含量虽较少但上升幅度大,ABA/IAA增加,表明根部ABA积累早于叶部;‘郑单958’ABA含量低于‘豫单2002’,且除叶片全展期外其他时期的差异均显著,可推断‘郑单958’衰老晚于‘豫单2002’。

## 讨 论

在植物细胞正常代谢过程中,氧分子作为重要的电子受体,同时还伴随着部分电子逃逸出氧化还原系统,产生高能量的ROS,其中包括 $O_2^-$ 、 $\cdot OH$ 和 $H_2O_2$ 。如果作物遇到逆境胁迫,ROS和膜脂过氧化产物会大量增加。其中,ROS具有很强的氧化活性,通过破坏植物细胞膜、蛋白质、核酸和碳水化合物等造成氧化损伤,影响植物细胞正常的生理代谢过程(Guo等2009)。大量实验证明,叶片的衰老过程中其光合功能的衰退和 $H_2O_2$ 等ROS积累密切相关(冯晴等1998;郑殿峰等2008)。玉米早衰是目前农业生产中亟待解决的问题,因此通过延长叶片光合功能期延缓早衰的发生从而提高产量是作物化学调控的最终目标。

KT是植物细胞分裂素的一种,能提高植物内源的CTK水平,在乙烯感受水平上抑制乙烯对衰

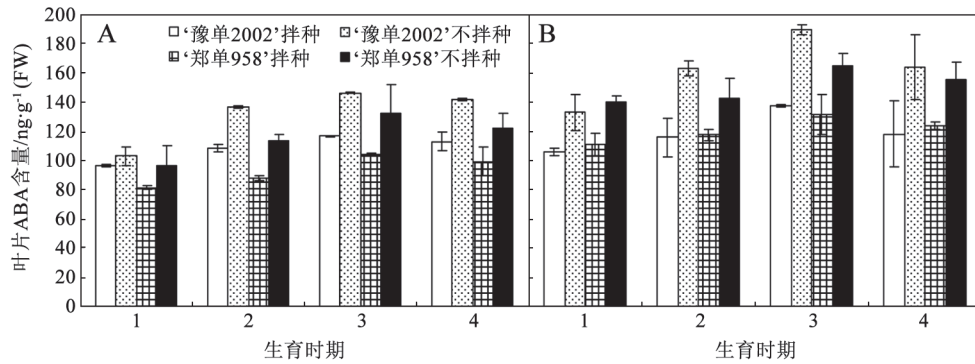


图9 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期叶片ABA含量变化

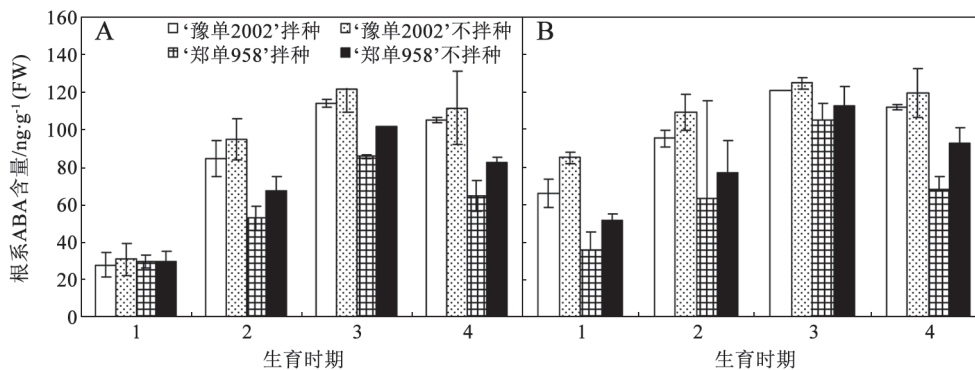
Fig.9 Change of leaf ABA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

图10 玉米第14叶(A)和第18叶(B)不同生育时期根系ABA含量变化

Fig.10 Change of root ABA content at different growing stages of the 14<sup>th</sup> (A) and 18<sup>th</sup> (B) leaf

老代谢调控的影响(Clarke等1994); 还可缓解胁迫对玉米抗氧化酶活性和叶绿体的破坏(徐莉莉等2010)。我们前期的结果表明丁二酸浸种通过增加叶片的SOD活性, 延缓叶片早衰的发生(杨青华等2009), 从而提高玉米产量(马兴立等2010)。本文中, 外源激动素和丁二酸混合拌种促进了SOD基因的表达和IAA/ABA比值的增加, 清除ROS的能力增加, 致使膜脂过氧化得到缓解, 延长植株(根叶)的生理功能, 这与郑翠萍等(2008)和吴珍龄等(2000)的研究结果一致。由此可以推断, 外源激动素和丁二酸混合拌种使植株生理功能期持续时间延长, 衰老较晚发生, 可能与SOD活性的降幅相对较小及IAA/ABA比值增加有关。此外, 由于ABA通常能加速SOD活性的下降, 促进MDA含量的积累, 导致膜脂过氧化加剧, 有人认为这是启动植株早衰的主要因子(董志强等2005)。因此, ‘豫单2002’的根叶O<sub>2</sub><sup>-</sup>的产生速率、ABA含量和SOD活性可能作为较‘郑单958’早衰的主要原因。

但有关根叶早衰的问题, 刘俊明等(2000)研究指出, 玉米早衰首先是根系死亡, 然后出现光合能力下降、叶片早枯, 而周苏玫等(2001)和肖启银等(2009)认为在生育后期叶片的过早衰老导致根系营养的缺乏从而加速了根系的衰老。一般认为根/叶衰老与ROS代谢存在着密切关系。本试验中, 叶片衰老过程中, ROS积累低于根系, SOD参与了叶片衰老进程的调控, 并通过协同作用来保护叶片减轻ROS的伤害, 延长其功能期。另外, ABA/IAA的比值也影响了植物的光合作用和器官的衰老(胡朝晖等2009), 根系的ABA/IAA高于叶片, 综上推测玉米根系衰老先于叶片。因此在玉米中后期要防止根的早衰, 为地上部分提供大量营养物质和水分, 进而延缓地上部衰老。

#### 参考文献

- 程艳丽, 宋纯鹏(2005). 植物细胞H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的信号转导途径. 中国科学C辑, 35 (6): 480-489  
董志强, 舒文华, 翟学军, 张保明, 刘芳, 宋国琦(2005). 棉株不同器

- 官中几种内源激素的变化及相关关系. 核农学报, 19 (1): 62~67
- 冯晴, 徐朗莱, 叶茂柄(1998). 两品种小麦叶片衰老过程中清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能力的差异. 作物学报, 24 (6): 828~832
- 胡朝晖, 杨丽霞, 宋涛平, 彭新凯, 李玲(2009). 水分胁迫对花生幼苗叶片内源激素含量的影响. 中国农学通报, 25 (17): 133~136
- 李合生主编(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 164~169
- 刘俊明, 宋宝辉, 沈新中, 董文中, 庞玉红, 赵彤, 佟占昌, 张从慧, 黄世慧, 雍一丘(2000). 玉米新杂交种综合评价. 辽宁农业科学, (2): 1~6
- 马兴立, 谌涛, 李健, 杨青华(2010). 不同植物生长调节物质对玉米叶片衰老及产量的影响. 玉米科学, 18 (3): 105~107
- 吴珍龄, 胡国权, 王康(2000). 激动素促进受冷害稻苗SOD生物合成机理的探讨. 作物学报, 26 (1): 116~120
- 肖启银, 任万军, 杨文钰, 卢庭启, 刘代银(2009). 免耕留茬抛秧栽培模式对水稻生育后期叶片衰老特性的影响. 作物学报, 35 (8): 1562~1567
- 谢祝捷, 姜东, 曹卫星, 戴廷波, 荆奇(2004). 花后干旱和渍水条件下生长调节物质对冬小麦光合特性和物质运转的影响. 作物学报, 30 (10): 1047~1052
- 徐莉莉, 李萍, 王玉林, 郭喜丰, 赵秀兰(2010). 细胞分裂素类物质对镉胁迫下玉米幼苗生长和抗氧化酶活性及脯氨酸含量的影响. 环境科学学报, 30 (11): 2256~2263
- 阎成士, 李德全, 张建华(1999). 植物叶片衰老与氧化胁迫. 植物学通报, 16 (4): 398~404
- 杨青华, 马二培, 马兴立(2009). 丁二酸浸种对玉米叶片光合色素含量及相关酶活性的影响. 华北农学报, 24 (5): 155~158
- 杨文钰, 樊高琼, 任万军, 王竹, 于振文, 余松烈(2005). 烯效唑干拌种对小麦根叶生理功能的影响. 中国农业科学, 38 (7): 1339~1345
- 张志良主编(1990). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 65~67
- 郑翠萍, 吴迪, 李玲, 程聪, 罗红艺(2008). 6-苄基腺嘌呤和激动素对香石竹切花衰老的生理效应. 植物生理学通讯, 44 (6): 1152~1154
- 郑殿峰, 赵黎明, 冯乃杰(2008). 植物生长调节剂对大豆叶片内源激素含量及保护酶活性的影响. 作物学报, 34 (7): 1233~1239
- 郑圣先, 聂军, 戴平安, 郑颖俊(2006). 控释氮肥对杂交水稻生育后期根系形态生理特征和衰老的影响. 植物营养与肥料学报, 12 (2): 188~194
- 周苏玫, 王晨阳, 张重义, 贺德先(2001). 土壤渍水对冬小麦根系生长及营养代谢的影响. 作物学报, 27 (5): 673~679
- Clarke SF, Jameson PE, Downs C (1994). The influence of 6-benzylaminopurine on post-harvest senescence of floral tissues of broccoli (*Brassica oleracea* var *Italica*). *Plant Growth Regul*, 14: 21~27
- Guo B, Liang YC, Zhu YG (2009). Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice? *J Plant Physiol*, 166 (1): 20~31
- Hong ZL, Lakkineni K, Zhang ZM, Verma DPS (2000). Removal of feedback inhibition of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol*, 122 (4): 1129~1136
- Ruan X, Wang Q, Pan CD, Chen YN, Jiang H (2009). Physiological acclimation strategies of riparian plants to environment change in the delta of the Tarim River, China. *Environ Geol*, 57 (8): 1761~1773
- Xie ZJ, Jiang D, Cao WX, Dai TB, Jing Q (2003). Relationships of endogenous plant hormones to accumulation of grain protein and starch in winter wheat under different post-anthesis soil water statuses. *Plant Growth Regul*, 41 (2): 117~127