

烯效唑干拌种对小麦叶片衰老期间有关酶活性的影响

樊高琼 杨文钰* 任万君 刘帆

四川农业大学农学院, 雅安 625014

提要 研究不同浓度(0、10、20、40 mg·kg⁻¹)烯效唑干拌种对小麦品种川麦30不同叶序(3叶、7叶、旗叶)叶片衰老期间酶活性影响的结果表明, 烯效唑干拌种后, 不同叶序叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性增强, 衰老后期仍维持较高水平; 而核糖核酸酶(RNase)活性水平及上升速率则受抑, 叶片中丙二醛(MDA)积累量减少, 可溶性蛋白质含量下降缓慢。

关键词 小麦; 烯效唑(S-3307); 叶片衰老; 活性氧清除系统; 核糖核酸酶

Effects of Uniconazole Waterless-dressing Seeds on Enzyme Activities During Leaf Senescence of Wheat

FAN Gao-Qiong, YANG Wen-Yu*, REN Wan-Jun, LIU Fan

College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014

Abstract The effects of S-3307(uniconazole) waterless-dressing seeds with different concentrations (0,10, 20, 40 mg·kg⁻¹) on the activities of some enzymes related to leaf (3rd leaf, 7th leaf and flag leaf) senescence of wheat cv. Chuanmai 30 were studied. The results showed that: S-3307 treatment increased the activities of superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), ascorbate peroxidase(APX) and decreased the activity of RNase during leaf senescence; At the same time, the leaves treated by S-3307 had higher soluble protein content and lower MDA content during leaf senescence. Therefore, it was suggested that the action of S-3307 on delaying senescence of wheat leaves was correlated with the increasing activities of active oxygen scavenging system, and the decreasing activity of RNase.

Key words wheat; uniconazole (S-3307); leaf senescence; components of oxygen's scavenging system; RNase

作物叶片是光合作用的主要器官。延缓叶片衰老、延长叶片的功能期, 对充分挖掘叶片的光合生产潜力, 进而提高小麦产量及品质具有极其重要的意义。李文雄^[1]认为, 保持叶绿素和功能叶面积而延长光合作用提高产量, 除了育种途径外, 主要是外源生长调节物质。Patterson等^[2]也认为, 延缓小麦衰老取决于发现有效的化学生长调节剂, 或者鉴定出叶子衰老的遗传变异性。烯效唑是一种高效、低毒、低残留的植物生长延缓剂, 生产中广泛用于培育壮秧。有关烯效唑延缓叶片衰老的效果也多有报道^[3~5], 但对其作用机制研究较少, 且多以幼苗期叶片或者后期喷施进行研究^[4,5]。鉴于烯效唑干拌种小麦是一项简化、节水、高效和增产的栽培措施^[6], 本文采用前期干拌种的方式, 依据药效的持续性, 以3叶、7叶、旗叶为对象, 研究烯效唑干拌种小麦后对叶片衰老期间活性氧清除系统酶活性的影响, 以探明烯效唑抗衰老的效果及机制, 为其在生产中应用提

供参考。

材料与方法

试验于1999年11月~2000年6月在本校喷江农场进行。土壤肥力中等, 前作为夏玉米。小麦(*Triticum aestivum* L.)品种为川麦30, 烯效唑为江苏建湖农药厂生产的5%可湿性粉剂。分别用10 mg·kg⁻¹(A1)、20 mg·kg⁻¹(A2)、40 mg·kg⁻¹(A3)烯效唑干拌种, 以不拌种作对照(A0)。单因素随机区组设计, 免耕撬窝点播, 小区面积12 m²(4 m×3 m), 行窝距20 cm×10 cm, 基本苗180万株·hm⁻², 试验重复3次。每hm²施450 kg过磷酸钙(P₂O₅ 17%)、150 kg氯化钾(K₂O 52%)、330

收稿 2003-12-29 修定 2004-05-31

资助 四川省学术技术带头人培养基金。

* 通讯作者(E-mail:wenyu.yang@263.net, Tel:0835-2882320)。

kg 尿素(N 46%), 肥料全用作底肥施用。其它栽培措施同一般大田生产。

两叶一心时每小区定点20株, 自3叶、7叶、旗叶抽出起, 每隔5 d测量其叶片长度直至定长(最大叶长), 由此确定叶片抽身期(叶片抽出一1/3定长)、成长期(1/3定长一定长)、衰老期(定长以后)。在3叶、7叶、旗叶叶片定长时起, 每小区每隔10 d取样1次, 分别测定各种生理生化指标。

核糖核酸酶(RNase)活性测定参照文献7的方法, 以30 min内水解1 μg RNA为1个酶活性单位。

超氧化物歧化酶(SOD)酶液制备参照文献8的方法, 活性测定参照张宪政^[9]和王爱国等^[10]的方法, 1个酶活单位相当于引起3 mL反应液达到50%抑制所需的酶量, 并按 $A=(V \times 1000)/(B \times W)$ ^[8]计算每g鲜重材料每h的酶活性, 酶活性单位用 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW}) \cdot \text{h}^{-1}$ 表示。

过氧化氢酶(CAT)活性测定参照Mishra等^[11]法, 以 ΔA_{240} 每min下降1.0为1个酶活性单位, 用 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$ 表示。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照Mishra等^[11]法, 以 ΔA_{290} 每min下降1.0为1个酶活性单位, 用 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$ 表示。

丙二醛(MDA)含量测定参照文献8和12的方法, 酶液制备同SOD。用 $\Delta OD(532 \sim 600 \text{ nm}) \times V / (0.155 \times d \times W)$ ^[12]计算MDA浓度, 以 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$ 表示。

可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定^[9]。

结果与讨论

1 烯效唑对小麦叶片衰老期间几种酶活性的影响

图1~4显示:

(1)叶片全展后, 核糖核酸酶活性持续上升, 意味着核酸水平下降。烯效唑抑制该酶活性, 在叶片全展后30 d, 烯效唑处理的3叶、7叶、旗叶核糖核酸酶活性平均分别降低12.5%、20.8%、22.1%。不同叶序间最适浓度有差异, 3叶中核糖核酸酶活性随着烯效唑浓度增大而降低, 7叶、旗叶以A1、A2处理的较好(图1)。

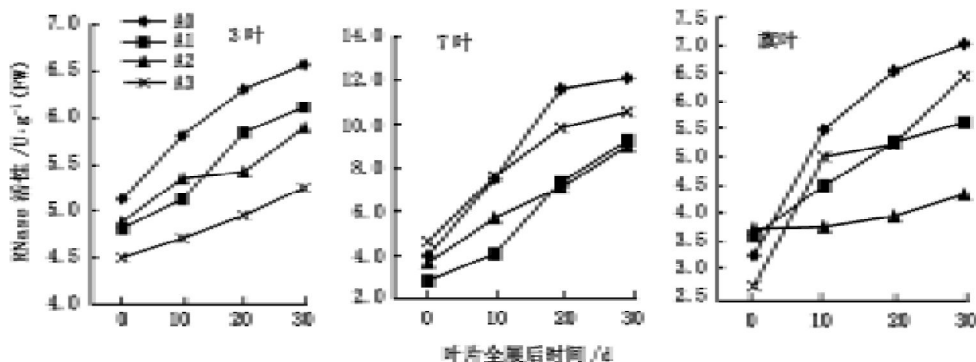


图1 烯效唑对叶片核糖核酸酶活性的影响

Fig.1 Effect of S-3307 on RNase activity in leaves of wheat

(2)叶片全展后, SOD活性呈单峰曲线(图2), 旗叶SOD活性下降较早。烯效唑不同处理的叶片中SOD活性均提高。3叶中未经烯效唑处理的叶片在全展后10 d略有下降, 而处理的则继续上升; 7叶叶片中酶活性起始值较高, 这种状态一直维持到叶片衰老后期; 旗叶中处理与未作处理的则在酶活性峰值期时差异最大, 在叶片全展后40 d, 烯效唑处理的旗叶中SOD活性仍维持较高水平, A1、A2、A3处理的分别提高47.1%、

59.3%和27.5%。

(3)在叶片全展后, CAT活性与SOD活性变化曲线相似(图3), 但其峰值较SOD出现得早。烯效唑处理的叶片中CAT活性均提高, 3叶、7叶中以高浓度A3处理的效果最好; 旗叶中表现为CAT活性下降速度慢, 延后效应增强, 如在旗叶叶片全展后30 d, A1、A2、A3处理的CAT活性分别较未作处理的提高38.9%、66.7%和33.3%。

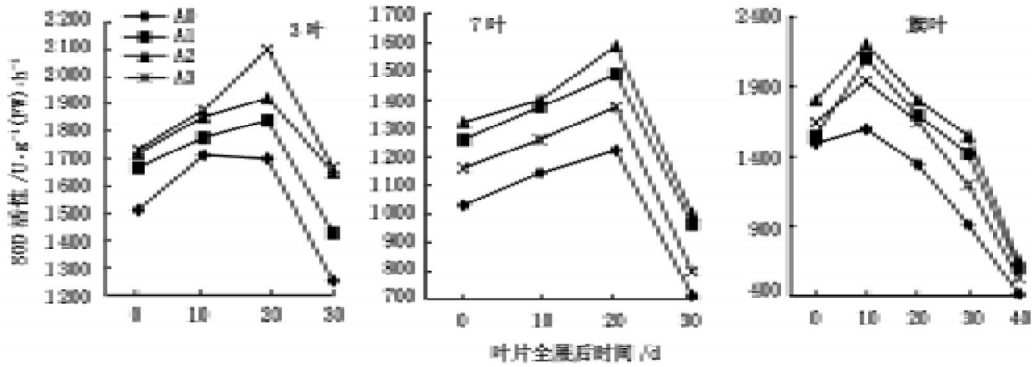


图2 烯效唑对叶片SOD活性的影响

Fig. 2 Effect of S-3307 on SOD activity in leaves of wheat

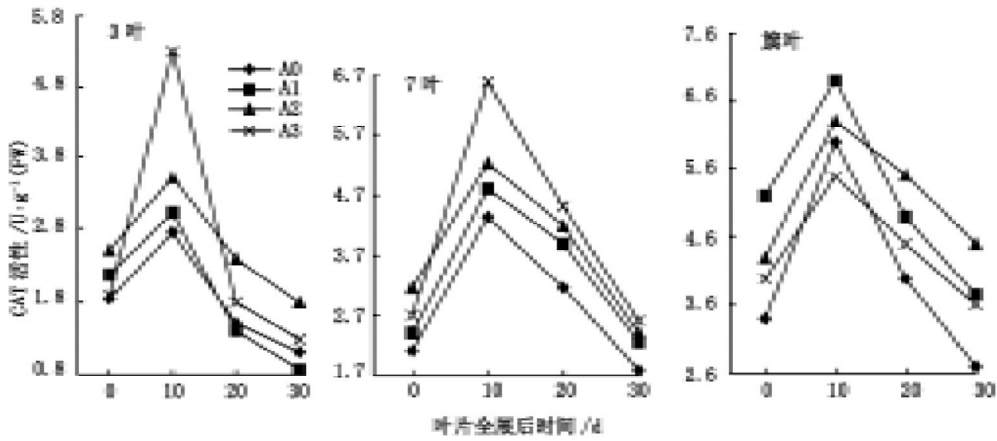


图3 烯效唑对叶片CAT活性的影响

Fig. 3 Effect of S-3307 on CAT activity in leaves of wheat

(4) APX 是抗坏血酸-谷胱甘肽氧化还原途径 (ascorbate-glutathione cycle) 中的第一个酶, 主要存在于叶绿体中, 是清除 H_2O_2 的关键酶^[14]。其活性高峰出现在叶片全展后 10 d (图4)。旗叶中此

酶活性最高, 其次是 3 叶、7 叶。此酶活性下降也较快, 在叶片全展后 20 d 即低于全展时的水平。烯效唑处理的 3 叶中酶活性下降延缓, 7 叶、旗叶中主要是酶活性峰值提高。

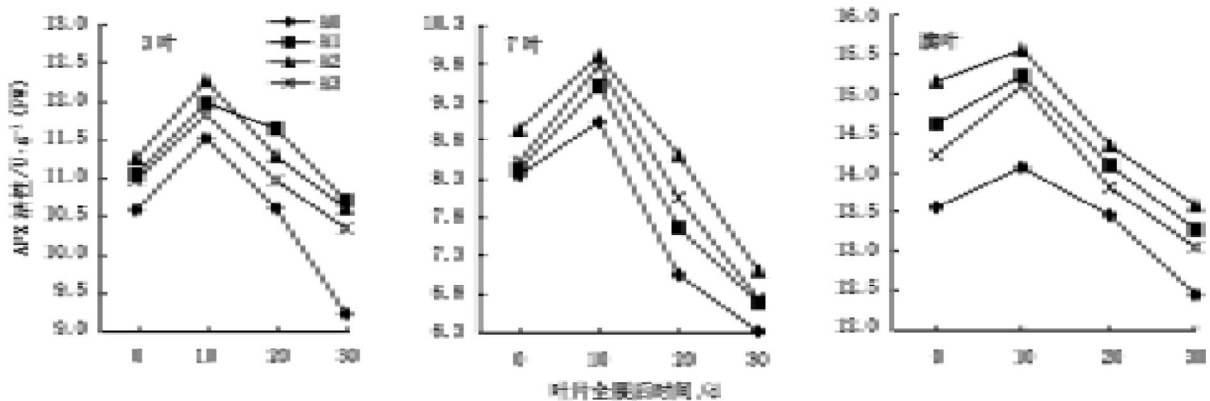


图4 烯效唑对叶片APX活性的影响

Fig. 4 Effect of S-3307 on APX activity in leaves of wheat

2 烯效唑对小麦叶片几种衰老指标的影响

从图5、6可见:

(1) 叶的衰老往往与叶中可溶性蛋白质的减少密切相关。叶片全展后可溶性蛋白质含量持续下降(图5), 表明叶片已步入衰老。烯效唑处理的叶片中可溶性蛋白质含量高且下降较未作处理的缓慢。在叶片全展时, 烯效唑处理的3叶、7叶、旗叶中可溶性蛋白质含量平均分别是未作处理的1.22、1.08、1.02倍, 在叶片全展后30 d, 分别是未作处理的2.73、1.33、1.91倍, 可见烯效唑处理延缓了可溶性蛋白质的降解。烯效唑处理的7叶叶中可溶性蛋白质含量有随处理浓度增大而增加的趋势; 旗叶中则以A2处理的最好; 3叶中处理之间差异较小, 但烯效唑处理的抗衰老效果好一些。

(2) MDA是脂质过氧化产物, 其积累量增多也是叶片衰老的原因之一^[8,13,14]。叶片全展后, MDA含量不断增多(图6), 表明活性氧清除系统的失衡, 脂质过氧化作用加强。7叶、旗叶MDA积累速度较3叶快。烯效唑处理后, 3叶、7叶、旗叶MDA积累量较未作处理的少, 积累速度也慢。叶片全展后30 d, 烯效唑处理的3叶、7叶、旗叶叶片MDA含量分别较未作处理的降低9.3%、11.7%和14.2%。

总之, 从本文结果可以得出两点印象:

(1) 正如Nooden指出的, 植物衰老过程中, 蛋白质和核酸水平的下降可能是所有与衰老有关的事件中最基本的事件, 它们的变化可能是所有生理性衰退变化的基础。核糖核酸酶活性的上升不仅可反映核酸水平的下降, 也可反映蛋白质的降

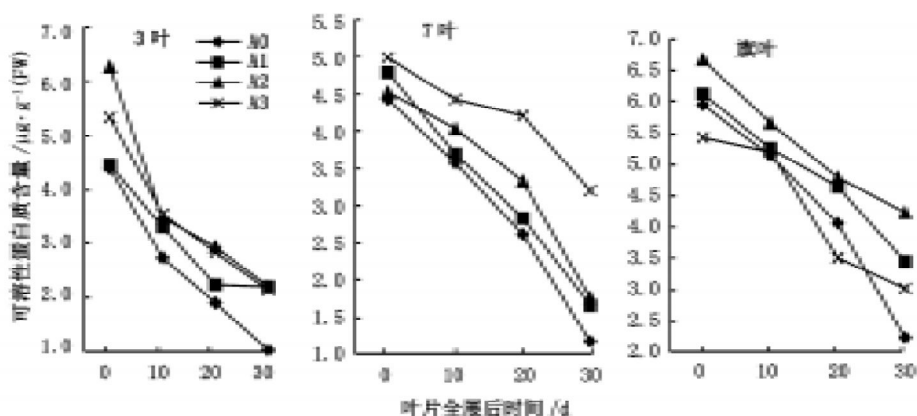


图5 烯效唑对叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 5 Effect of S-3307 on soluble protein content in leaves of wheat

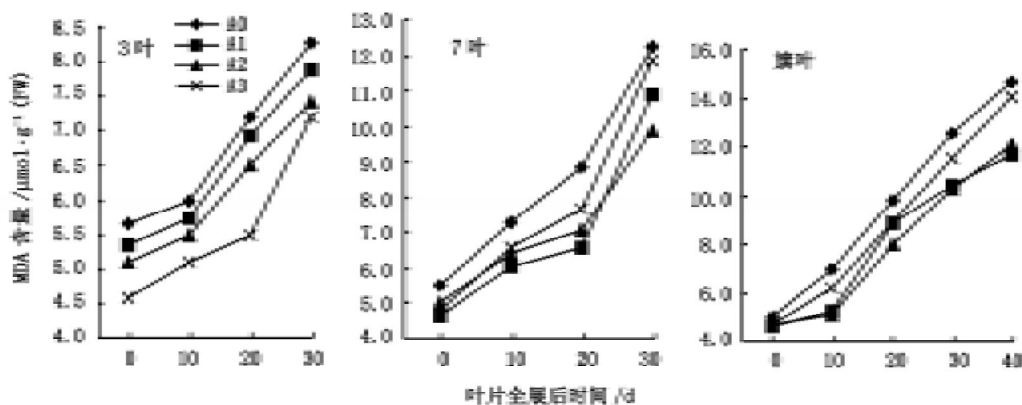


图6 烯效唑对叶片中MDA含量的影响

Fig. 6 Effect of S-3307 on MDA content in leaves of wheat

解,核糖核酸酶活性与叶片衰老密切相关^[15]。本文结果表明,可溶性蛋白质的含量在叶片全展后开始下降,表明叶片自全展后即进入衰老。烯效唑可延缓蛋白质的降解和MDA的积累,这与烯效唑提高叶片衰老期间几种细胞保护酶(SOD、CAT、APX)的活性和抑制叶片中核糖核酸酶活性水平及上升速率有关。

(2)从烯效唑的浓度效应来说,3叶、7叶上以高浓度(A3)比较突出,可能是烯效唑浓度的直接效应;而在生育后期旗叶上则表现为低浓度的A1、A2效果较好,可能与前期培育了壮苗有关。烯效唑可延缓前期(3叶)、中期(7叶)、后期(旗叶)叶片的衰老,这可能是小麦生产中前期培育壮苗、后期促进籽粒灌浆、最终导致产量和品质提高的生理基础。

参考文献

- 李文雄. 植物衰老生理. 国外农学: 麦类作物, 1986, (1): 23~26
- Patterson TG, Ass DM, Run WA. 田间生长小麦衰老期间酶的变化. 国外农学: 麦类作物, 1985, (6): 29~32
- 廖利民, 韩碧文, 何仲佩. S-3307和PP₃₃₃对小麦某些生理特性的影响. 植物生理学通讯, 1990, (3): 28~31
- 鲍正发, 郑寨生, 张尚法等. 烯效唑在小麦上应用的效果及技术研究. 浙江农业大学学报, 1996, 22(1): 103~104
- 王怀杯, 沈志民, 徐绍英. 烯效唑对大麦产量及延缓衰老的影响. 浙江农业大学学报, 1998, 24(2): 189~193
- 杨文钰, 于振文, 余松烈等. 烯效唑干拌种对小麦的增产作用. 作物学报, 2004, 30(5): 502~506
- 朱广廉主编. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1990. 138~140
- 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. 植物学报, 1984, 26(6): 605~615
- 张宪政主编. 植物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992. 208~210, 156~157
- 王爱国, 罗广华, 邵从本等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77~84
- Mishra NP, Mishra RK, Singhal GS. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant Physiol, 1993, 102: 903~910
- 白宝璋, 汤学军主编. 植物生理学测试技术. 北京: 科学出版社, 1993. 145
- 冯晴, 徐朗莱, 叶茂炳等. 小麦叶片衰老过程中3种保护酶的最适pH和温度变化. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 8~10
- Asada K. Ascorbate peroxidases—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. Physiol Plant, 1992, 85: 216~220
- 张远海, 梅传生, 吴光南. 水稻叶片衰老过程中核糖核酸含量和核糖核酸酶活性. 江苏农业学报, 1987, 3(2): 10~15