

甘蔗成熟期蔗叶 POD 活性与自然脱叶率的相关性分析

方志存^{1,2}, 李如丹^{1,2}, 刘少春^{1,2*}, 高欣欣^{1,2}, 樊仙^{1,2}, 刀静梅^{1,2}, 邓军^{1,2}, 张跃彬^{1,2}, 郭家文^{1,2}

(1.云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南 开远 661699; 2.云南省甘蔗遗传改良重点实验室, 云南 开远 661699)

摘要:以自然脱叶性状不同的甘蔗栽培品种为材料,测定成熟期甘蔗叶片、叶鞘、叶痕的过氧化物酶(POD)活性,调查甘蔗自然脱叶率,探讨 POD 活性与自然脱叶率的相关性。结果表明:在甘蔗不同成熟阶段,自然易脱叶型品种云蔗 03-194 的叶片、叶鞘、叶痕的 POD 活性均极显著高于难脱叶型品种桂糖 02-467 和云蔗 99-91;在成熟前期、中期和后期,易脱叶型品种云蔗 01-1413 的叶片、叶鞘的 POD 活性极显著高于难脱叶型品种桂糖 02-467 和云蔗 99-91;云蔗 03-194、云蔗 01-1413、桂糖 02-467、云蔗 99-91 的自然脱叶率呈逐渐降低的趋势;在成熟前期,叶片、叶鞘的 POD 活性与自然脱叶率呈显著正相关,在成熟中后期,叶片、叶鞘的 POD 活性与自然脱叶率呈极显著正相关,叶痕 POD 的活性与自然脱叶率呈显著正相关。

关键词:甘蔗叶片;成熟期;过氧化物酶活性;自然脱叶率;相关性

中图分类号: S566.101 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)04-0345-05

Correlation analysis of peroxidase activity of leaf and defoliation rate for sugarcane during maturation

Fang Zhicun^{1,2}, Li Rudan^{1,2}, Liu Shaochun^{1,2*}, Gao Xinxin^{1,2}, Fan Xian^{1,2}, Dao Jingmei^{1,2},

Deng Jun^{1,2}, Zhang Yuebin^{1,2}, Guo Jiawen^{1,2}

(1.Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kaiyuan, Yunnan 661699, China; 2.Yunnan Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Kaiyuan, Yunnan 661699, China)

Abstract: In order to find out the correlation between peroxidase(POD) activity and defoliation rate for sugarcane, peroxidase activities of leaf, leaf sheath and leaf scar were measured and natural defoliation rate was investigated for four sugarcane varieties during maturation. The results showed that the POD activities of leaf, leaf sheath and leaf scar in easy-defoliate sugarcane variety CYZ03-194 were very significantly higher than those in difficult-defoliate varieties CGT02-467 and CYZ99-91 in different maturing period. POD activities of leaf, leaf sheath in the easy-defoliate variety CYZ01-1413 were significantly higher than those in the difficult-defoliate varieties GT02-467 and CYZ99-91 at the early-middle, middle, and late maturation. During the sugarcane maturity, natural defoliation rates were showed decreased from CYZ03-194, CYZ01-1413, CGT02-467 and CYZ99-91. The significant correlations were found between natural defoliation rate and the POD activity in both leaf and leaf sheath during early-middle maturation, and a very significant correlation during middle-late maturation, and significant correlation in leaf scar during maturation.

Keywords: sugarcane leaves; maturation; peroxidase(POD) activity; defoliation rate; correlation

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)是全球种植面积和产量最大的糖料作物。中国甘蔗种植面积约 1.55×10^6 hm², 居全球第 3 位^[1-2]。目前,中国制糖

甘蔗原料的收获主要依靠手工作业,而收获用工占整个甘蔗原料生产用工量的 55%,其中剥叶用工占整个收获用工量的 65%^[3]。甘蔗叶鞘剥离的难易程

收稿日期: 2014-12-17

修回日期: 2015-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160257)

作者简介: 方志存(1987—),女,云南屏边人,硕士,主要从事甘蔗营养生理研究,810103712@qq.com; *通信作者,刘少春,研究员,主要从事甘蔗栽培生理研究,ynliushch@163.com

度不仅是影响收获甘蔗效率的一个重要因素,而且叶鞘剥离的干净率直接影响到制糖甘蔗原料的含杂率^[4]。选育自然脱叶性状好的品种不仅可以节省大量的劳动力投入,还可减少制糖甘蔗原料的含杂率,提高制糖甘蔗原料的质量。植物叶片脱落是植物细胞结构、代谢调控和基因表达等多种变化协同作用的结果^[5]。有研究^[6-9]表明,与植物器官脱落相关的酶类主要有纤维素酶(EG)、果胶(甲)酯酶(PME)、过氧化物酶(POD)等。POD作为一种重要的多功能代谢酶,参与植物生长发育、细胞分裂与分化、器官脱落调节等多种生理活动^[10-11]。POD与禾本科作物、叶类蔬菜植物的器官衰老脱落密切相关^[12-13]。有研究表明,POD的主要作用机制是通过氧化吲哚乙酸(IAA)来促进细胞的脱落分化,加速离区细胞衰老,促进离层细胞的脱落^[14]。甘蔗叶片自然脱落与蔗叶 POD 活性的相关性少见报道。本研究中选择自然脱叶性状不同的甘蔗栽培品种为材料,测定成熟期各个阶段蔗叶、叶鞘和叶痕的 POD 活性,探讨自然脱叶率的动态变化,分析蔗叶 POD 活性和甘蔗自然脱叶的相关性,以期明确影响甘蔗自然脱叶性状的关键酶类,为选育自然脱叶性良好的甘蔗品种提供理论依据。

1 试验地概况

试验地位于云南省开远市北郊云南省农业科学院甘蔗研究所试验基地(103°15'E, 23°42'N),海拔 1 055 m, 年均降水 740 mm, 年均气温 19.8 °C。试验地土壤有机质含量为 20.5 g/kg, 全氮含量 1.64 g/kg, 全磷含量 0.67 g/kg, 全钾含量 13.7 g/kg, 碱解氮含量 80.79 mg/kg, 速效磷含量 9.81 mg/kg, 速效钾含量 112.78 mg/kg, pH 6.0。

2 材料与方法

2.1 材料

供试甘蔗品种有自然易脱叶型品种云蔗 03-194、云蔗 01-1413; 自然难脱叶型品种桂糖 02-467、云蔗 99-91。上述材料均由云南省农业科学院甘蔗研究所提供。

2.2 试验设计

采用随机区组设计, 每 1 个不同脱叶性状的甘蔗品种为 1 个处理, 每个小区面积 36 m², 3 次重复,

材料播种时间 2013 年 3 月 15 日。田间管理按大田生产管理进行, 保持正常生长。

2.3 测定指标及方法

2.3.1 蔗叶 POD 活性的测定

从甘蔗生长进入成熟期早期(2013 年 11 月 15 日)开始第 1 次采样, 依次设成熟前期、成熟中期、成熟中后期、成熟后期共 4 个成熟阶段, 每个成熟阶段间隔 20 d 采样 1 次。每个小区每次采样选择生长正常的甘蔗植株 5 株, 形态学上完全展开叶为+1 叶, 往下整取+2 叶的叶片、叶鞘、叶痕(叶痕基线上下各 1 cm 的蔗茎组织)各部位的样品。样品取后迅速用液氮速冻, 带回实验室, 保存于-80 °C 超低温冰箱, 用于 POD 活性测定。

分别取不同叶位叶痕、叶鞘、叶片样品各 1.000 g, 0~4 °C 冰浴, 用 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 5.5)研磨提取, 提取液完全转移到 15 mL 离心管中, 用缓冲液定容至 10 mL, 摇匀, 采用 Eppendorf 5417R 台式高速冷冻离心机离心(5 000 r/min, 4 °C 离心 8 min), 取上清液, 4 °C 保存, 作为过氧化物酶粗提液。重复 3 次。过氧化物酶活性测定参照刘萍等^[16]的方法: 取具塞管 2 支, 1 支作为对照(混合液中的 1 mL 酶液用缓冲液代替), 1 支加入 4 mL 混合液(2 mL 浓度 0.05 mol/L 缓冲液、1 mL 浓度 0.05 mol/L 愈创木酚、1 mL 过氧化物酶粗提液)和 2% H₂O₂ 1 mL, 摇匀(计时), 在波长 470 nm 下每 0.5 min 记录光密度值, 以每 0.5 min 光密度值变化表示活性大小。

2.3.2 甘蔗脱叶率调查

分别在甘蔗成熟前期、成熟中期、成熟中后期、成熟后期共 4 个阶段调查植株的自然展开总叶位数和自然脱叶数, 计算脱叶率。脱叶率=自然脱叶数/总叶数×100%。

2.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2003 整理数据, 用 SPSS18.0 统计软件进行方差分析(ANOVA)和处理间的显著性检验(Duncan)。

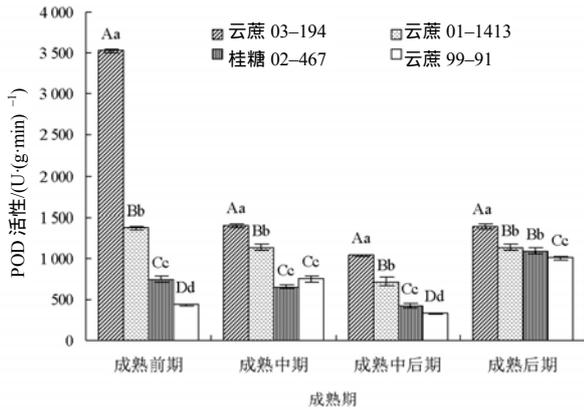
3 结果与分析

3.1 甘蔗成熟期叶片、叶鞘和叶痕的 POD 活性

3.1.1 叶片的 POD 活性

从图 1 可以看出, 云蔗 03-194 叶片的 POD 活

性最高, 极显著高于云蔗 01-1413 桂糖 02-467 和云蔗 99-91。在成熟前期、成熟中期、成熟中后期, 云蔗 01-1413 叶片 POD 活性极显著高于桂糖 02-467 和云蔗 99-91, 其中, 在成熟前期, 云蔗 03-194 POD 活性最高, 达 3 527.47 U/(g·min), 比云蔗 99-91 叶片 POD 活性 432.07 U/(g·min)高 8.2 倍。与中后期比, 成熟后期 4 个品种叶片 POD 活性迅速升高。



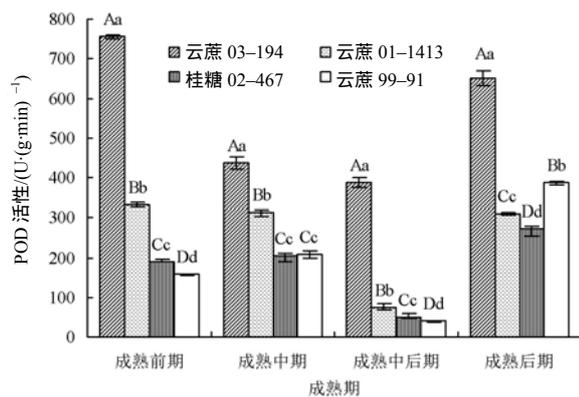
不同大、小写字母分别表示不同品种 POD 活性在 0.01 水平和 0.05 水平上差异显著。

图 1 不同成熟时期供试品种叶片的 POD 活性

Fig. 1 Changes of POD activity of leaf among experimental sugarcane cultivars in various stages of maturity

3.1.2 叶鞘的 POD 活性

由图 2 可见, 在不同的成熟阶段, 云蔗 03-194 叶鞘的 POD 活性最高, 极显著高于云蔗 01-1413、桂糖 02-467 和云蔗 99-91。在成熟前期、成熟中期、



不同大、小写字母分别表示不同品种 POD 活性在 0.01 水平和 0.05 水平上差异显著。

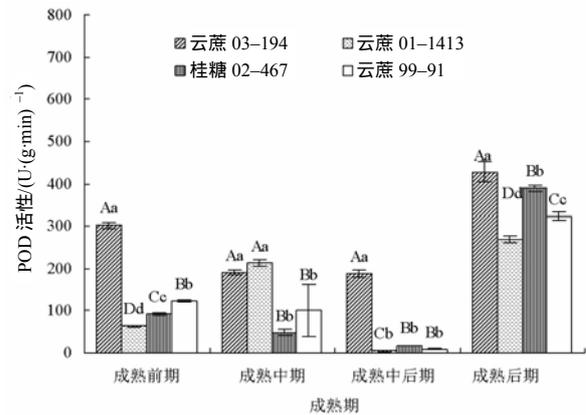
图 2 不同成熟时期供试品种叶鞘的 POD 活性

Fig.2 Changes of POD activity of leaf sheath among experimental sugarcane cultivars in various stages of maturity

成熟后期, 云蔗 01-1413 叶鞘的 POD 活性极显著高于桂糖 02-467 和云蔗 99-91, 其中, 在成熟前期云蔗 03-194 叶鞘 POD 活性最高, 达 755.87 U/(g·min); 在成熟中后期云蔗 99-91 的 POD 活性最低达, 为 40.00 U/(g·min)。与中后期比较, 成熟后期 4 个品种叶鞘 POD 活性大幅度升高。

3.1.3 叶痕的 POD 活性

从图 3 可见, 在不同的成熟阶段, 易脱叶型品种云蔗 03-194 叶痕的 POD 活性极显著高于难脱叶型品种云蔗 99-91 和桂糖 02-467 ($P < 0.01$)。4 个甘蔗品种在成熟后期叶痕的 POD 活性均高于成熟中后期, 云蔗 03-194 叶痕的 POD 活性最高, 为 428 U/(g·min)。成熟后期云蔗 99-91 叶痕的 POD 活性为成熟中后期的 34.2 倍。



不同大、小写字母分别表示不同品种 POD 活性在 0.01 水平和 0.05 水平上差异显著。

图 3 不同成熟时期供试品种叶痕的 POD 活性

Fig.3 Changes of POD activity of leaf scar among experimental sugarcane cultivars in various stages of maturity

3.2 甘蔗成熟期不同品种的自然脱叶率

由表 1 可以看出, 在不同成熟阶段, 自然脱叶率从高到低的品种依次为云蔗 03-194、云蔗 01-1413、桂糖 02-467、云蔗 99-91, 自然易脱叶型品种云蔗 03-194 和云蔗 01-1413 的脱叶率极显著高于自然难脱叶型品种云蔗 99-91 和桂糖 02-467。在成熟后期, 云蔗 03-194 脱叶率高达 52.12%, 而云蔗 99-91 的脱叶率仅为 12.70%。

表 1 不同品种的自然脱叶率

Table 1 Defoliation rate of different sugarcane varieties

品 种	脱叶率/ %			
	成熟前期	成熟中期	成熟中后期	成熟后期
云蔗 03-194	(30.15±8.27)Aa	(45.79±6.03)Aa	(50.83±12.88)Aa	(52.12±11.04)Aa
云蔗 01-1413	(26.18±5.18)Aa	(35.57±5.67)Bb	(44.16±6.66)Bb	(47.03±7.37)Aa
桂糖 02-467	(15.20±7.53)Bb	(22.22±6.13)Cc	(27.54±6.29)Cb	(29.03±7.28)Bb
云蔗 99-91	(5.35±11.22)Cc	(6.75±4.91)Dd	(11.19±5.84)Dc	(12.70±6.51)Cc

同列不同大、小写字母分别表示在 0.01 水平和 0.05 水平上差异显著。

3.3 蔗叶 POD 活性与自然脱叶率的相关性分析

相关分析结果(表 2)显示,在甘蔗整个成熟时期,叶鞘、叶片、叶痕的 POD 活性与蔗叶脱叶率的相关性呈逐渐递减的趋势。在甘蔗成熟后期,叶

片、叶鞘和叶痕 POD 活性与自然脱叶率相关性均达显著或极显著正相关。在整个成熟过程,叶鞘的 POD 活性与甘蔗的自然脱叶率呈显著正相关或极显著正相关。

表 2 蔗叶的 POD 活性与自然脱叶率的相关分析结果

Table 2 Correlation analysis between abscission rate of sugarcane leaf and POD activity

项目	叶片 POD 活性		叶鞘 POD 活性		叶痕 POD 活性	
	R	P	R	P	R	P
成熟前期脱叶率	0.622*	0.031	0.611*	0.035	0.297	0.348
成熟中期脱叶率	0.588	0.060	0.711**	0.010	0.712**	0.009
成熟中后期脱叶率	0.759**	0.004	0.874**	0.000	0.618*	0.032
成熟后期脱叶率	0.661*	0.019	0.874**	0.000	0.060	0.853

R 为相关系数; P 为相关性显著水平; *表示 0.05 水平上差异显著; **表示在 0.01 水平上差异显著。

4 结论与讨论

POD 是一种广谱性酶,由细胞核内对应的 DNA 转录生成 mRNA,之后以 mRNA 为模板在细胞质内合成,并转运到细胞壁、液泡内,可在质外体间运输,参与植物生长发育、细胞分裂与分化,促使植物器官脱落^[10-11,16]。Marja 等^[17]研究了欧洲赤松松针脱落过程中 POD 活性的变化表明,POD 活性的增加能够促进松针的脱落。棉花棉铃、柑橘幼果脱落过程中,POD 活性随之上升^[18-19]。本研究结果表明,在不同成熟阶段,易脱叶型品种云蔗 03-194 的叶片、叶鞘、叶痕的 POD 活性均极显著高于难脱叶型品种桂糖 02-467 和云蔗 99-91,在成熟前期、成熟中期和成熟后期,易脱叶型品种云蔗 01-1413 叶片、叶鞘的 POD 活性也极显著高于难脱叶型品种桂糖 02-467 和云蔗 99-91,而云蔗 03-194、云蔗 01-1413、桂糖 02-467、云蔗 99-91 的自然脱叶率呈逐渐递减的趋势,易脱叶型品种叶片、叶鞘、叶痕较高的 POD 活性与其较高的自然脱叶率相对应。在整个成熟过程,叶鞘 POD 活性与甘蔗自然脱叶率呈显著或极显著正相关,这表明

叶鞘 POD 活性的高低更能真实反映甘蔗自然脱叶的难易程度。

植物不同器官的 POD 活性存在较大差异,一般来说植物幼嫩组织的 POD 活性高于衰老部位。对黄花菜花序 POD 酶活性的研究表明,花梗上的 POD 活性高于外花瓣的 POD 活性^[20]。马建萍等^[21]对粟根、茎、叶、鞘和穗的 POD 活性研究表明,穗的酶活性最强,叶鞘的酶活性最弱,菊花嫩叶的 POD 同工酶带最多,其次为老叶,再次为嫩茎,而木质化茎的酶带最少^[22]。本研究结果表明,在不同成熟阶段,相同叶位叶片、叶鞘和叶痕的 POD 活性存在极显著差异,叶片的 POD 活性极显著高于叶鞘和叶痕。在 4 个成熟时期,云蔗 03-194、云蔗 01-1413、云蔗 03-194 的叶片、叶鞘、叶痕的 POD 活性呈递减趋势,桂糖 02-467 在成熟后期叶片、叶痕、叶鞘的 POD 活性也呈递减趋势,这表明甘蔗叶片可能是 POD 酶合成的主要部位,POD 由叶片细胞合成后,通过质外体运输到叶鞘、叶痕等部位,但甘蔗叶片 POD 转运机理尚不清楚。

前人对多种作物的研究^[23-26]表明,在低温胁迫

的条件下,草莓、落葵、西瓜、黄瓜等 POD 活性也相应升高。本研究结果表明,与甘蔗成熟中后期比,在甘蔗成熟后期,4 个供试甘蔗品种叶片、叶鞘和叶痕 POD 的活性呈规律性大幅度升高,这可能与这一时期试验田间出现了低温霜冻(-2 ℃)天气胁迫有关。

有研究^[3]报道甘蔗叶鞘内源纤维素酶对脱叶发生有调控作用。本研究结果表明,甘蔗叶鞘的 POD 活性与甘蔗自然脱叶率呈显著正相关。下一步将探索内源乙烯、脱落酸(ABA)、果胶酶等激素和酶对甘蔗脱叶的影响,进一步从生理水平上明确调控甘蔗脱叶的关键酶类和激素。

参考文献:

- [1] 黄杏,陈明辉,杨丽涛,等.低温胁迫下外源 ABA 对甘蔗幼苗抗寒性及内源激素的影响[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(4): 6-11.
- [2] 刘海清. 我国甘蔗产业现状与发展趋势[J]. 中国热带农业, 2009(1): 8-9.
- [3] 樊仙,刘少春,高欣欣,等.甘蔗成熟期叶鞘纤维素酶活性对自然脱落的影响[J]. 植物生理学报, 2013, 49(11): 1228-1232.
- [4] 牟向伟,区颖刚,吴昊,等.甘蔗叶鞘在弹性剥叶元件作用下破坏高速摄影分析[J]. 农业机械学报, 2012, 43(2): 85-89.
- [5] Taylor J E, Whitelaw C A. Signals in abscission[J]. New Phytologist, 2001, 151(2): 323-339.
- [6] 李晓红,齐明芳,李天来,等.同温度处理对番茄离体花柄脱落及其相关酶活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(6): 780-783.
- [7] 宋莉萍,刘金辉,郑殿峰,等.不同时期叶喷植物生长调节剂对大豆花荚脱落率及多聚半乳糖醛酸酶活性的影响[J]. 植物生理学报, 2011, 47(4): 356-362.
- [8] 董黎梨,汪永保,李映志,等.菠萝蜜果实糖苷酶和多聚半乳糖醛酸酶的活性变化[J]. 南方农业学报, 2013, 4(6): 924-929.
- [9] 齐明芳,许涛,郭泳,等.园艺植物器官脱落研究进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2010, 41(6): 643-648.
- [10] 丁薪源,周娜娜,赵玉梅,等.冬枣果实过氧化物酶酶学特性分析[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 31-34.
- [11] 李刚. 铝对不同耐铝性的小麦基因型根尖过氧化氢含量和细胞壁过氧化物酶活性的影响[D]. 杭州:浙江大学, 2006.
- [12] Kahk P, Rad M. Pyrophosphatase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during leaf development and senescence[J]. Plant Physiology, 1979(63): 318-323.
- [13] 张丽欣,宗汝静. 乙烯对叶菜衰老的影响及光对乙烯作用的增效作用[J]. 华北农学报, 1987, 2(4): 121-125.
- [14] 刘喜明. 巨尾桉脱落树皮形成过程及机理的研究[D]. 福州:福建农林大学, 2013.
- [15] 刘萍,李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京:科学出版社, 2007.
- [16] Zipor G, Oren-shamir M. Do vacuolar peroxidases act as plant caretakers? [J/OL][2012-11-09]. Plant Science, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.09.018>.
- [17] Marja R, Annamari M, Riitta J T, et al. Defoliation-induced responses in peroxidases, phenolics, and polyamines in scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles[J]. Journal of Chemical Ecology, 2003, 29(8): 1905-1918.
- [18] 李伶俐,杨青华,李文. 棉花幼铃脱落过程中 IAA、ABA、MDA 含量及 SOD、POD 活性的变化[J]. 植物生理学报, 2001, 27(3): 215-220.
- [19] 管彦良,胡安生,蒋斌芳. 柑桔果实脱落的激素调控[J]. 浙江农业学报, 1995, 7(4): 297-300.
- [20] 杨大伟,夏延斌,谭兴和,等. 黄花菜中过氧化物酶活性的测定及褐变控制[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2003, 29(3): 258-261.
- [21] 马建萍,古世禄,独俊娥,等. 谷子(粟)生育过程中 POX 同工酶的分析[J]. 作物学报, 2002, 28(3): 406-410.
- [22] 丁玲,陈发棣,滕年军,等. 菊花不同生长阶段不同器官 POD 和 EST 同工酶比较[J]. 西北植物学报, 2007, 27(10): 2029-2034.
- [23] Gülen H, Çetinkaya C, Kadioğlu M, et al. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria × ananassa*) plants under low temperature[J]. Journal of Biological and Environmental Sciences, 2008, 2(6): 95-100.
- [24] Haque M S, Islam M M, Rakib M A, et al. A regulatory approach on low temperature induced enzymatic and antioxidative status in leaf of Pui vegetable (*Basella alba*) [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2014(21): 366-373.
- [25] 刘文革,王鸣,阎志红,等. 冷锻炼对不同倍性西瓜幼苗 SOD、POD 活性及 MDA 含量的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(4): 578-582.
- [26] 逯明辉,宋慧,李晓明,等. 冷害过程中黄瓜叶片 SOD、CAT 和 POD 活性的变化[J]. 西北植物学报, 2005, 25(8): 1570-1573.

责任编辑:尹小红

英文编辑:梁和