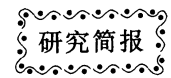


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00347



不同小豆品种(系)叶片衰老与活性氧代谢

宋 慧 冯佰利* 高小丽 高金锋 王鹏科 柴 岩 张盼盼

西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100

摘 要: 以高产小豆品种(系)2000-75、冀红 9218 和低产品种(系)红宝 1 号、湾选 1 号为材料, 研究小豆开花至成熟期主茎开花节叶片的叶绿素含量、可溶性蛋白含量、酶促防御系统保护性酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和丙二醛(MDA)积累量的变化规律。结果表明, 小豆开花后, 随着衰老进程的推进, 主茎开花节位叶片自下向上依次衰老, 其叶绿素、可溶性蛋白含量、SOD、CAT 活性均呈下降趋势, POD 活性、MDA 积累量持续上升。与低产品种(系)相比, 高产品种(系)主茎开花节位叶片衰老缓慢, 生育后期仍保持较高的叶绿素、可溶性蛋白含量和 SOD、CAT 活性, 籽粒产量高。相关分析表明, 小豆产量与生育后期各节位叶片的叶绿素、可溶性蛋白含量、SOD、CAT 活性呈极显著正相关, POD 活性和 MDA 含量与产量呈现显著负相关。研究表明, 小豆生育后期, 有效控制和延迟叶片衰老, 对籽粒产量形成具有重要作用。

关键词: 小豆; 叶片衰老; 叶绿素含量; 活性氧代谢

Leaf Senescence and Reactive Oxygen Metabolism in Different Adzuki Bean Cultivars (Lines)

SONG Hui, FENG Bai-Li*, GAO Xiao-Li, GAO Jin-Feng, WANG Peng-Ke, CHAI Yan, and ZHANG Pan-Pan

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

Abstract: To examine the relation of leaf senescence and its reactive oxygen metabolites from different nodes of various adzuki bean cultivars, to explore the aging mechanisms of adzuki bean leaf, to find out the intrinsic yield-forming mechanisms and to provide a theoretical basis for high-yield breeding and production of adzuki beans. We conducted a field experiment, two high-yielding cultivars, 2000-75 and Jihong 9218, and two low-yielding cultivars, Hongbao 1 and Wanxuan 1, all adopted in the summer planting ecological region of China, were grown in 2008 and their leaf physiological indices, such as chlorophyll content, soluble-protein content, SOD, CAT and POD activities and MDA accumulations, were measured from flowering to ripening stages. The results showed that after flowering of the cultivars, their functional leaves aged gradually from bottom nodes to top nodes, and showed decreased chlorophyll and soluble-protein contents, decreased SOD and CAT activities and increased POD activities and MDA accumulations in the proceed of senescence, for which there were significant differences among cultivars. Compared with the low-yielding varieties, the leaves of the high-yielding cultivars aged slower, showing relatively higher contents of chlorophyll and soluble-protein, higher activities of SOD and CAT at the late growth stage, and thus resulting significantly higher grain yields. The overall data indicated that yield is positively correlated with leaf chlorophyll and soluble-protein contents, as well as SOD and CAT activities and negatively associated with POD activities and MDA accumulations at the late growth stage. Therefore, effective inhibition of leaf senescence or prolonging the functional period of leaves at the late growing stage plays an important role in raising yield.

Keywords: Adzuki bean; Leaf senescence; Chlorophyll content; Antioxidant metabolism

近年来, 由于自由基伤害学说的引入, 活性氧自由基与植物衰老关系的研究成为热点。关于植物叶片衰老与活性氧代谢的研究主要集中在小麦^[1-2]、水稻^[3-4]、玉米^[5-6]、

绿豆^[7-8]等作物上, 研究表明, 活性氧伤害是引起植物叶片衰老的原因之一, 植物可通过多种途径产生活性氧, 同时细胞内也存在清除这些活性氧的多种途径^[9], 其中超氧

本研究由食用豆产业技术体系专项, 国家公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07), 国家科技支撑计划项目(2006BAD02B08), 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100201)和西北农林科技大学唐仲英育种基金(No.50)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 冯佰利, E-mail: 7012766@163.com

第一作者联系方式: E-mail: xieyingpu2006@126.com

Received(收稿日期): 2009-06-23; Accepted(接受日期): 2009-12-08.

化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等是活性氧清除系统的重要保护酶^[10],它们能有效地阻止高浓度氧的积累,防止膜脂的过氧化作用,延缓植物的衰老,使植物维持正常的生长和发育^[11]。

关于小豆开花节位叶片衰老与活性氧代谢的系统研究罕见报道。本研究旨在分析夏播区不同品种(系)小豆主茎开花节位叶片衰老过程中 SOD、CAT、POD 活性及膜脂过氧化产物 MDA 含量等生理指标的变化。揭示其衰老与活性氧代谢的关系,探讨小豆叶片衰老的生理机制,为小豆生产与栽培技术研究提供理论基础和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2000-75、冀红 9218、红宝 1 号和湾选 1 号 4 个小豆品种。

1.2 试验设计

于 2008 年在陕西杨凌西北农林科技大学农作一站进行试验。该站位于黄土高原南部半湿润易旱区(108°E, 34°N),海拔 520 m,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。小区面积 10 m² (2 m×5 m),12 行区,行距 0.40 m,株距 0.25 m。6 月中旬开沟带尺点播,播前按磷酸二铵 225 kg hm⁻²、磷酸二氢钾 30 kg hm⁻² 的标准施足基肥,随机区组排列,设 3 个重复,田间管理按照国家小豆区试要求进行。

1.3 田间取样

通过观察,参试品种主茎通常有 12~15 节,株型紧凑,节间密集,一般主茎下部节位的叶腋处多着生分枝,第 5 节以上节位叶腋处着生花梗,在花梗的节瘤上着生花和豆荚,开花节位叶片的功能期和生长发育状况对籽粒产量影响较大。以小豆主茎自子叶节上 5、6、7、8 节 4 个开花节位的叶片(依次简称第 5 叶、第 6 叶、第 7 叶、第 8 叶)作为测定对象,并以其三出复叶的中间小叶作为该节位的代表叶片,自开花期每隔 7~8 d 采样测定。

1.4 叶绿素含量测定

准确称取 0.08 g 剪碎的样品,置 20 mL 具塞刻度试管中(各管分别加入约 0.5 mL 纯丙酮),然后分别加入 80% 丙酮浸提叶绿素^[12]。样品完全变白后,以 80% 丙酮作为空白调零,在 645 nm 和 663 nm 波长下测定光密度。

1.5 酶液制备及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)测定

取 0.500 g 剪碎的新鲜样品,置预冷研钵中,加 8 mL 含 1% PVP 的 50 mmol L⁻¹,pH 7.8 的冷磷酸缓冲液及少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆,于 2℃ 20 000×g 冷冻离心 20 min,上清液即为酶提取液。参照 Ginnopolitis 等^[13]和王爱国等^[14]方法测定此酶液 SOD 活性,参阅文献^[15]测定 CAT 活性。以 Sigma 法^[16]测定 POD 活性。

1.6 丙二醛(MDA)积累量、可溶性蛋白含量测定

以 Heath 等^[17]的硫代巴比妥酸(TBA)法测定 MDA。

用考马斯亮蓝 G-250 蛋白染色法测定可溶性蛋白含量^[12]。

1.7 产量及其构成因素

成熟期按梅花取样法每小区取 5 株分析籽粒产量构成因素,收获期按照常规方法进行考种。

1.8 数据处理

采用 DPS 统计软件进行相关数据的处理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种(系)小豆叶片叶绿素含量的变化

由表 1 可知,小豆开花后,随着生育进程叶绿素含量逐渐增大,叶片基本定型时达到最大值,随叶片衰老呈明显的下降趋势,主茎不同开花节位叶片叶绿素含量依次为第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶 > 第 5 叶。不同品种叶绿素含量的动态变化趋势一致,但各时期含量的大小和变幅存在着显著差异。同一测定时期,高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 各功能叶片的叶绿素含量高于低产品种(系)红宝 1 号和湾选 1 号的同节位叶片,同时,高产品种各功能叶片的叶绿素衰减较慢,完熟期仍保持一定的绿色和活力,而低产品种的叶片衰老进程较快。

2.2 不同品种(系)小豆叶片可溶性蛋白含量的变化

由表 2 可知,小豆开花初期,不同品种同节位叶片可溶性蛋白含量差异不显著,但是随着植株衰老差异增大至极显著水平。同一测定时期可溶性蛋白含量表现为第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶 > 第 5 叶。且高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 的高于低产品种(系)红宝 1 号和湾选 1 号,尤其到完熟期,后者叶片已经极近干枯时,前者仍保持一定的可溶性蛋白的含量。

2.3 不同品种(系)小豆叶片 SOD、CAT 活性的变化

由表 3 可知,随着花后生育进程的推进,小豆叶片 SOD 活性呈下降趋势表现为第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶 > 第 5 叶。开花后主茎开花节位叶片中 CAT 活性变化(表 4)与 SOD 活性相似,高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 各功能叶片的 SOD、CAT 活性高于低产品种(系)红宝 1 号和湾选 1 号。

2.4 不同品种(系)小豆叶片 POD 活性的变化

由表 5 可知,随花后生育进程的推进,各参试品种的叶片 POD 含量呈明显上升趋势,同一测定时期表现为第 5 叶 > 第 6 叶 > 第 7 叶 > 第 8 叶且高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 明显低于低产品种(系)红宝 1 号和湾选 1 号。在植株的衰老过程中,POD 参与了活性氧的生成,此时的 POD 已经不能起到保护作用。

2.5 不同品种(系)小豆叶片 MDA 积累量的变化

由表 6 可知,小豆开花后,随着叶片的衰老表现为丙二醛(MDA)积累量持续上升,且第 5 叶 > 第 6 叶 > 第 7 叶 > 第 8 叶。同一测定时期,低产品种(系)红宝 1 号和湾选 1 号各功能叶片的 MDA 积累量明显高于高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218,尤其在植株生长发育后期后两品种叶片具有较低 MDA 积累量。

表 1 不同品种(系)小豆叶片叶绿素含量的变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 1 Changes of chlorophyll content in the leaves of different adzuki bean cultivars (mg g^{-1})

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year/month/day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	2.36±0.12 A	2.24±0.13 A	1.32±0.20 A	0.97±0.05 A	0.69±0.05 A	0.31±0.06 A
	冀红 9218 Jihong 9218	2.46±0.11 A	2.27±0.14 A	1.26±0.11 A	0.89±0.11 A	0.52±0.09 A	0.29±0.08 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	2.27±0.14 A	2.12±0.10 B	1.06±0.19 B	0.33±0.08 B	0.15±0.08 B	0.05±0.02 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	2.35±0.18 A	2.02±0.11 B	1.03±0.12 B	0.26±0.12 B	0.11±0.04 B	0.00±0.00 B
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	2.37±0.23 A	2.38±0.16 A	1.43±0.17 A	1.09±0.07 A	0.74±0.08 A	0.39±0.09 A
	冀红 9218 Jihong 9218	2.40±0.18 A	2.35±0.11 A	1.35±0.21 A	1.06±0.11 A	0.62±0.06 A	0.30±0.07 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	2.22 ±0.13 A	2.12±0.19 B	0.98±0.19 B	0.61±0.09 B	0.20±0.05 B	0.09±0.02 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	2.30 ±0.20 A	2.08±0.12 B	0.87±0.22 B	0.54±0.12 B	0.16±0.03 B	0.05±0.03 B
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	2.32±0.11 A	2.58±0.17 A	1.79±0.21 A	1.55±0.13 A	0.89±0.11 A	0.58±0.10 A
	冀红 9218 Jihong 9218	2.27±0.13 A	2.49±0.11 A	1.85±0.18 A	1.64±0.12 A	0.76±0.08 A	0.41±0.08 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	2.22±0.18 A	2.12±0.20 B	1.22±0.14 B	0.86±0.17 B	0.29±0.05 B	0.15±0.05 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	2.17±0.10 A	2.19±0.12 B	1.27±0.15 B	0.92±0.15 B	0.22±0.08 B	0.13±0.02 B
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	1.80±0.14 A	2.77±0.14 A	2.09±0.16 A	1.76±0.13 A	1.05±0.11 A	0.67±0.11 A
	冀红 9218 Jihong 9218	2.05±0.21 A	2.61±0.12 A	2.11±0.12 A	1.65±0.17 A	0.97±0.08 A	0.54±0.08 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	2.09±0.18 A	2.32±0.16 B	1.45±0.13 B	1.04±0.15 B	0.35±0.15 B	0.19±0.05 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	1.86±0.09 A	2.22±0.15 B	1.37±0.15 B	1.17±0.19 B	0.30±0.12 B	0.21±0.09 B

同叶位同时期中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

表 2 不同品种(系)小豆叶片可溶性蛋白含量的变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 2 Changes of soluble protein content in leaves of different adzuki bean cultivars (mg g^{-1})

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year/month/day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	36.2±2.7 A	23.9±2.2 A	14.1±2.0 A	9.8±1.6 A	5.9±0.8 A	3.4±0.9 A
	冀红 9218 Jihong 9218	34.3±1.9 A	22.4±2.5 A	12.5±2.2 A	8.6±1.1 A	6.1±1.4 A	2.9±1.2 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	30.1±2.3 A	20.5±1.9 A	8.7±1.9 B	4.6±1.0 B	3.5±0.5 B	1.1±0.8 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	32.6±2.5 A	16.9±2.6 A	7.5±2.5 B	3.9±0.8 B	2.4±0.4 B	0.0±0.0 B
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	31.8±2.0 A	25.8±1.5 A	17.2±1.2 A	11.8±1.2 A	7.9±1.3 A	3.9±0.9 A
	冀红 9218 Jihong 9218	32.9±2.7 A	24.6±2.3 A	16.3±2.1 A	9.9±1.5 A	8.4±1.0 A	3.2±1.4 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	36.4 ±3.1 A	23.7±2.2 A	11.5±1.8 B	6.8±0.9 B	4.0±1.2 B	1.8±0.5 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	32.7 ±2.4 A	22.4±2.9 A	10.8±1.6 B	4.7±1.4 B	3.2±1.4 B	1.1±0.4 B
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	34.2±2.6 A	26.5±1.2 A	18.4±1.1 A	15.3±1.6 A	10.6±1.5 A	4.1±0.9 A
	冀红 9218 Jihong 9218	35.7±2.4 A	24.3±2.1 A	17.8±1.6 A	11.7±1.2 A	9.3±1.6 A	3.8±0.7 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	36.5±2.3 A	23.1±2.0 A	13.2±1.7 B	9.1±1.8 B	5.7±1.3 B	2.4±0.4 A
	湾选 1 号 Wanxuan 1	37.1±2.8 A	21.7±2.8 A	12.8±1.6 B	7.5±1.6 B	3.0±1.1 B	1.7±1.0 B
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	35.8±2.2 A	35.4±2.3 A	21.7±1.5 A	17.0±1.5 A	13.6±0.8 A	4.5±0.6 A
	冀红 9218 Jihong 9218	37.2±2.6 A	35.9±3.1 A	20.4±1.7 A	15.3±1.0 A	10.4±0.6 A	4.1±1.5 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	38.1±1.8 A	33.4±2.5 A	15.8±1.4 B	10.6±0.9 B	6.8±0.5 B	3.2±1.1 A
	湾选 1 号 Wanxuan 1	38.8±2.7 A	31.8±2.7 A	14.6±1.2 B	7.6±1.3 B	4.2±0.4 B	2.9±1.0 A

同叶位同时期中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

2.6 不同品种(系)小豆品种产量性状比较

单位面积株数、单株荚数、单荚粒数和千粒重是构成小豆产量的重要因素。由表 7 可知, 高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 单株荚数和籽粒产量极显著高于低产品种

(系)红宝 1 号和湾选 1 号。

2.7 不同品种(系)小豆生育后期叶片生理指标与产量相关性分析

由表 8 可知, 小豆生育后期, 各开花节位功能叶片的叶

表 3 不同品种(系)小豆叶片 SOD 活性的变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 3 Changes of SOD activity in the leaves of different adzuki bean cultivars ($U g^{-1}FW$)

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year/month/day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	1307.8±11.6 A	1374.1±19.6 B	880.3±11.6 A	689.2±11.4 A	473.1±6.4 A	334.1±6.5 A
	冀红 9218 Jihong 9218	1224.9±9.4 A	1298.3±18.2 A	754.5±21.5 A	553.1±10.6 A	302.5±10.5 B	138.2±9.1 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	1045.6±23.5 B	976.3±12.4 C	382.5±13.6 B	239.6±9.8 C	156.4±12.8 C	106.2±4.6 BC
	湾选 1 号 Wanxuan 1	1064.3±14.2 B	862.1±15.6 D	364.8±16.3 B	300.5±9.0 B	122.3±5.6 C	59.3±8.0 D
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	1296.5±23.5 B	1386.1±21.6 B	987.3±17.1 A	762.4±12.6 A	576.1±11.3 A	416.7±10.5 A
	冀红 9218 Jihong 9218	1326.8±21.1 A	1416.5±16.7 A	840.5±15.3 A	623.8±11.9 A	429.5±9.5 A	201.6±10.4 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	1021.3 ±14.3 D	1039.6±10.5 D	581.3±12.9 B	402.0±15.8 B	239.6±10.6 B	123.3±9.8 C
	湾选 1 号 Wanxuan 1	1084.6 ±23.6 C	1129.3±16.3 C	610.2±18.2 B	428.6±10.3 B	156.4±8.8 C	88.4±0.10.6 D
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	1329.1±17.5 B	1506.2±13.6 A	1098.3±20.1 A	921.9±11.2 A	580.6±13.4 A	465.1±11.8 A
	冀红 9218 Jihong 9218	1336.2±10.6 A	1523.4±15.8 A	982.5±17.9 A	716.2±13.1 A	406.3±10.9 B	251.3±14.9 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	1126.0±18.3 C	1287.2±20.3 B	675.2±15.8 B	598.6±12.5 B	225.6±12.3 C	133.5±10.1 C
	湾选 1 号 Wanxuan 1	1117.5±12.3 C	1253.4±18.4 B	645.0±11.5 B	521.4±14.3 B	215.3±12.9 C	99.4±8.2 D
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	1431.3±16.6 A	1499.8±22.3 B	1145.1±15.3 B	945.3±12.8 A	523.6±10.5 A	405.2±9.1 A
	冀红 9218 Jihong 9218	1322.5±15.7 A	1562.1±22.8 A	1206.8±12.4 A	925.1±10.3 A	504.9±11.4 A	336.8±8.5 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	1115.2±12.6 B	1321.6±12.5 C	882.6±19.8 C	681.2±13.6 B	368.5±9.2 B	145.7±4.3 C
	湾选 1 号 Wanxuan 1	1249.6±25.1 B	1477.5±22.1 B	920.3±16.1 C	669.3±14.7 B	328.1±12.1 B	102.1±5.6 D

同叶位同时期栏中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

表 4 不同品种(系)小豆叶片 CAT 活性的 84 变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 4 Changes of CAT activity in the leaves of different adzuki bean cultivars ($U g^{-1}FW$)

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year-month-day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	946.2±9.2 A	763.2±20.6 A	463.2±8.6 A	323.1±6.1 A	210.5±5.4 A	110.2±4.5 A
	冀红 9218 Jihong 9218	868.3±12.7 B	680.1±15.3 B	439.5±9.5 A	289.5±4.5 B	189.1±5.5 B	98.7±3.3 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	815.6±16.4 C	553.6±18.8 C	220.3±7.2 B	155.3±5.7 C	88.9±4.8 C	50.3±4.6 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	826.1±11.2 C	547.8±13.4 C	265.4±6.5 B	115.2±5.8 D	62.5±5.3 C	36.4±5.0 B
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	902.8±22.8 A	842.6±15.6 A	502.3±9.7 A	350.1±6.8 B	340.1±6.3 A	135.4±4.9 A
	冀红 9218 Jihong 9218	829.6±18.7 B	753.1±22.5 B	470.2±8.2 B	423.6±6.2 A	220.5±4.5 B	110.1±3.4 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	763.9 ±14.5 C	565.2±18.3 D	330.3±7.6 C	230.5±5.4 C	126.3±4.6 C	80.3±3.8 C
	湾选 1 号 Wanxuan 1	834.2 ±11.9 B	618.3±14.8 C	251.4±8.6 D	130.7±5.7 D	85.2±4.8 D	40.5±4.2 D
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	840.4±15.6 A	882.4±12.0 A	610.4±10.1 A	461.4±6.0 A	254.8±6.4 A	156.3±4.8 A
	冀红 9218 Jihong 9218	833.1±12.0 AB	832.5±11.8 B	582.9±8.9 A	425.3±5.5 B	236.1±5.9 B	144.2±3.9 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	784.3±18.9 C	750.1±14.8 C	388.2±9.2 C	294.5±6.2 C	168.8±5.3 C	101.2±4.1 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	823.5±11.6 B	720.3±20.7 D	523.4±6.5 B	199.3±5.3 D	107.5±4.9 D	66.5±3.2 C
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	868.4±10.5 A	920.4±11.3 A	705.8±7.7 A	542.1±6.5 A	346.4±5.5 A	175.9±3.1 A
	冀红 9218 Jihong 9218	850.2±16.8 A	864.3±13.8 B	651.3±8.2 B	526.4±4.3 A	296.1±3.4 B	160.8±3.5 A
	红宝 1 号 Hongbao 1	720.3±14.8 C	836.6±12.5 C	434.6±6.9 C	324.6±5.6 B	170.5±5.2 C	121.0±4.3 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	788.1±22.6 B	750.5±10.1 D	395.3±5.2 D	300.1±4.7 B	161.2±4.1 C	82.1±3.6 C

同叶位同时期栏中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

表 5 不同品种(系)小豆叶片过氧化物酶(POD)活性的变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 5 Changes of POD activity in the leaves of different adzuki bean cultivars ($U g^{-1} FW$)

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year/month/day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	85.2±4.3 A	303.1±5.1 C	520.3±5.5 C	634.3±5.1 D	729.1±6.5 D	751.2±6.3 D
	冀红 9218 Jihong 9218	91.3±3.4 A	318.2±4.7 C	513.5±6.1 C	680.2±6.3 C	780.2±7.5 C	799.5±8.1 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	91.5±5.1 A	425.6±5.1 A	812.4±4.3 A	850.9±5.7 B	822.9±5.8 B	904.7±4.6 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	95.7±3.5 A	386.4±5.4 B	715.3±5.2 B	830.8±4.9 A	889.4±6.6 A	995.8±8.1 A
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	71.3±4.8 B	221.3±4.4 D	436.3±5.0 C	584.2±4.3 D	635.7±6.3 D	655.5±6.5 D
	冀红 9218 Jihong 9218	90.5±4.2 A	263.4±4.7 C	429.8±4.8 C	602.3±4.2 C	708.4±4.5 C	736.2±4.4 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	82.6 ±5.1 AB	300.2±5.5 B	608.1±4.5 A	750.1±4.8 B	769.8±3.6 B	812.7±4.8 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	91.8 ±3.5 A	371.2±6.3 A	714.8±3.9 B	850.8±5.3 A	855.6±4.8 A	893.4±5.6 A
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	69.4±4.4 A	197.8±5.1 C	380.2±5.6 D	466.2±4.5 D	512.4±4.4 D	529.4±4.8 D
	冀红 9218 Jihong 9218	79.1±4.6 A	209.9±5.5 C	449.3±6.8 C	528.7±6.1 C	580.1±5.9 C	590.6±5.9 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	78.9±3.9 A	265.5±5.2 B	644.7±5.3 A	688.1±5.5 B	659.1±5.3 B	770.5±7.1 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	82.0±4.7 A	303.2±5.1 A	580.2±3.5 B	750.4±6.8 A	781.3±3.9 A	859.3±6.2 A
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	58.3±3.1 B	161.8±4.2 C	302.1±6.6 D	399.2±4.8 C	445.6±4.5 C	455.1±5.1 D
	冀红 9218 Jihong 9218	57.6±3.3 B	170.5±3.3 C	358.2±5.4 C	450.6±5.3 B	521.1±6.4 C	544.6 ±6.5 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	71.2±3.6 A	233.3±4.5 B	406.4±3.8 B	591.8±4.6 A	600.1±5.2 B	670.3±4.2 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	69.1±4.1 A	272.6±3.1 A	509.2±5.1 A	602.3±3.7 A	633.4±5.1 A	772.9±5.4 A

同叶位同时期栏中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

表 6 不同品种(系)小豆叶片 MDA 积累量的变化($\bar{x} \pm SD$)
Table 6 Changes of MDA content in the leaves of different adzuki bean cultivars ($\mu mol g^{-1}$)

叶位 Leaf position	品种 Cultivar	日期 Date (year/month/day)					
		2008/8/4	2008/8/18	2008/9/1	2008/9/15	2008/9/22	2008/9/29
第 5 叶位 Fifth leaf	2000-75	5.02±0.18 B	8.71±0.11 C	14.89±0.21 D	19.18±0.31 D	24.03±0.28 D	29.54±0.33 D
	冀红 9218 Jihong 9218	4.86±0.15 B	8.46±0.18 C	15.61±0.26 C	20.13±0.26 C	25.78±0.25 C	30.29±0.28 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	6.74±0.14 A	9.74±0.15 B	18.55±0.26 B	23.21±0.34 B	28.26±0.31 B	32.05±0.31 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	6.82±0.17 A	10.82±0.21 A	19.82±0.24 A	24.88±0.23 A	30.11±0.26 A	32.88±0.34 A
第 6 叶位 Sixth leaf	2000-75	3.98±0.15 B	6.12±0.18 D	11.56±0.22 D	15.34±0.19 D	21.84±0.23 C	26.82±0.29 D
	冀红 9218 Jihong 9218	4.21±0.19 A	7.06±0.22 C	13.84±0.25 C	16.21±0.25 C	22.79±0.23 B	25.67±0.24 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	4.16±0.16 B	7.22±0.14 B	16.71±0.28 A	19.87±0.24 B	25.45±0.25 A	28.34±0.25 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	4.35 ±0.17 A	8.19±0.16 A	18.55±0.20 B	21.52±0.32 A	25.73±0.31 A	30.16±0.32 A
第 7 叶位 Seventh leaf	2000-75	3.62±0.20 B	7.51±0.11 B	11.64±0.22 C	14.02±0.17 C	17.45±0.26 D	24.03±0.28 B
	冀红 9218 Jihong 9218	3.54±0.19 B	5.88±0.16 C	12.01±0.27 C	14.16±0.27 C	19.41±0.21 C	24.16±0.34 B
	红宝 1 号 Hongbao 1	3.66±0.18 B	6.12±0.15 C	14.86±0.27 B	16.89±0.24 B	22.35±0.24 B	25.49±0.31 A
	湾选 1 号 Wanxuan 1	4.18±0.16 A	8.14±0.15 A	16.35±0.19 A	19.52±0.31 A	23.89±0.29 A	25.83±0.25 A
第 8 叶位 Eighth leaf	2000-75	3.11±0.13 B	4.77±0.12 D	8.41±0.27 D	11.33±0.23 D	15.53±0.24 D	20.19±0.21 C
	冀红 9218 Jihong 9218	2.66±0.11 C	5.84±0.13 C	9.22±0.23 C	12.65±0.25 C	16.98±0.31 C	20.34±0.34 C
	红宝 1 号 Hongbao 1	3.59±0.14 A	6.94±0.15 B	11.89±0.25 B	14.56±0.32 B	19.80±0.32 B	22.45±0.26 B
	湾选 1 号 Wanxuan 1	3.56±0.13 A	7.76±0.11 A	12.43±0.24 A	16.37±0.21 A	18.99±0.28 A	23.67±0.27 A

同叶位同时期栏中标明不同字母的值在 0.01 水平上差异显著。

Values followed by a different letter within each column for same leaf position are significantly different at the 0.01 probability level.

表 7 不同品种(系)小豆的产量与产量结构
Table 7 Yield and yield components of different adzuki bean cultivars

品种(系) Cultivar(line)	每公顷株数 Plants per hectare	单株荚数 Pods per plant	荚粒数 Seeds per pod	千粒重 1000-grain weight (g)	实收产量 Seeds yield (kg hm ⁻²)
2000-75	100000	28.23 aA	6.27 aA	160.3 aA	1580.3 aA
冀红 9218 Jihong 9218	100000	27.87 aA	6.63 aA	159.7 aA	1560.0 aA
红宝 1 号 Hongbao 1	100000	24.33 bB	6.23 aA	154.1 abAB	1340.7 bB
湾选 1 号 Wanxuan 1	100000	23.20 bB	6.33 aA	147.2 bB	1320.7 bB

同一品种不同字母的值在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。

Values followed by different letters within each column are significant at the 0.05 and 0.01 probability levels.

表 8 小豆生育后期叶片生理指标与实收产量的相关性
Table 8 Correlation of seeds yield and physiological indicators of adzuki bean at the late growth stage

	产量 Seeds yield	叶绿素 Chl	可溶性蛋白 SP	超氧化物歧化酶 SOD	过氧化氢酶 CAT	过氧化物酶 POD
叶绿素 Chl	0.93**	1				
可溶性蛋白 SP	0.96**	0.95**	1			
超氧化物酶 SOD	0.97**	0.91*	0.90*	1		
过氧化氢酶 CAT	0.92**	0.89*	0.97**	0.83*	1	
过氧化物酶 POD	-0.82*	-0.87*	-0.90*	-0.97**	-0.93**	1
丙二醛 MDA	-0.86*	-0.95**	-0.84*	-0.89*	-0.95**	0.87*

*表示 0.05 显著水平; **表示 0.01 显著水平。

* Significant at the 0.05 probability level; ** Significant at the 0.01 probability level.

绿素、可溶性蛋白含量, SOD、CAT 活性与产量呈极显著正相关; POD 活性和 MDA 积累量与产量呈显著负相关。

3 讨论

生物体正常的物质代谢过程中, 自由基产生与清除的平衡起重要作用, 这一平衡的紊乱导致生物体的衰老, 甚至死亡。活性氧伤害是引起植物叶片衰老的原因之一, 植物可以通过多种途径产生活性氧, 同时细胞内也存在清除这些活性氧的多种途径, 其中起重要作用的是活性氧清除系统^[9]。SOD、CAT 和 POD 等是活性氧清除系统的重要保护酶, 能有效阻止体内超氧阴离子自由基(O₂⁻), 过氧化氢(H₂O₂)、羟基自由基(·OH)、单线态氧(¹O₂)等的增加, 防止膜脂过氧化作用, 延缓植物衰老, 使植物维持正常的生长和发育。在植物衰老过程中, 活性氧积累对植物产生伤害的一个重要机制是直接启动膜脂的过氧化作用, 导致膜的损伤和破坏, 引起膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的增加, 叶绿素降解和光合酶活性下降, 植物光合能力下降。

本研究表明, 小豆开花后, 主茎开花节叶片叶绿素含量和可溶性蛋白含量, 以及对抗活性氧毒害的内源保护酶 SOD、CAT 活性, 随着生育进程的推进呈现明显下降趋势。虽然 4 个参试品种在衰老过程中总体趋势表现一致, 但高产品种和低产品种衰老的进程存在明显的差异。与低产品种相比, 高产品种(系) 2000-75 和冀红 9218 在生育后期功能叶片 SOD、CAT 活性下降缓慢, MDA 含量较少, 叶绿素和可溶性蛋白含量显著较高, 同时高产品种单

株荚数多, 导致实际产量显著高于低产品种红宝 1 号和湾选 1 号。

小豆产量与生育后期各节位叶片的叶绿素、可溶性蛋白含量、SOD、CAT 活性呈极显著正相关, 与 POD 活性和 MDA 含量显著负相关。说明叶绿素和可溶性蛋白对产量的形成有直接作用; SOD、CAT 活性在小豆生育后期起保护作用, 防止膜脂过氧化作用, 延缓植株衰老, 提高单株产量; MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 其含量可表示细胞膜系统结构和功能受害的程度, 小豆生育后期 MDA 含量低, 膜脂过氧化程度低, 有利于产量的积累。

POD 活性在植物体内具有双重作用^[8], 一方面可以清除线粒体或胞浆中产生的低浓度 H₂O₂, 使脂质过氧化产物转化为正常的脂肪酸, 防止脂质过氧化连锁反应造成的膜伤害, 起保护作用; 另一方面参与活性氧的生成, 叶绿素的降解, 活性氧的产生, 并能引发膜脂过氧化作用, 具伤害效应。本研究表明, 小豆生育后期, POD 活性随着叶片的衰老呈上升趋势, 且与叶龄呈正相关, 说明小豆叶片中的 POD 活性可能参与活性氧的产生, 已经不能起保护作用, 与产量呈现明显负相关。

References

- [1] Yang S-S(杨淑慎), Gao J-F(高俊凤), Li X-J(李学俊), Lü J-Y(吕金印), Gao M(高梅). Leaf senescence and protective enzyme system of spring wheat hybrid. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(3): 460-463 (in Chinese with English abstract)
- [2] Feng B-L(冯佰利), Gao X-L(高小丽), Wang C-F(王长发),

- Zhang S-W(张嵩午), Li S-X(李生秀). Leaf senescence and active oxygen metabolism of different-type wheats under drought. *Chin J Eco-Agric* (中国生态农业学报), 2005, 13(4): 74–76 (in Chinese with English abstract)
- [3] Duan J(段俊), Liang C-Y(梁承邨), Huang Y-W(黄毓文). Studies on leaf senescence of hybrid rice at flowering and grain formation stag. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1997, 23(2): 139–144 (in Chinese with English abstract)
- [4] Wang X-J(王旭军), Xu Q-G(徐庆国), Yang Z-J(杨知建). Advances of research on rice leaf senescence physiology. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2005, 21(3): 187–190 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wang K-J(王空军), Hu C-H(胡昌浩), Dong S-T(董树亭), Liu K-C(刘开昌), Sun Q-Q(孙庆泉). Changes of the protective enzyme activities and lipid peroxidation after anthesis among maize varieties planted in different years. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1999, 25(6): 700–706 (in Chinese with English abstract)
- [6] Fu G-Z(付国占), Li C-H(李潮海), Wang J-Z(王俊忠), Wang Z-L(王振林), Cao H-M(曹鸿鸣), Jiao N-Y(焦念元), Wang X-D(王小东). Effects of stubble mulching and tillage management on leaf senescence metabolism and grain yield in summer maize. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2005, 25(1): 155–160 (in Chinese with English abstract)
- [7] Gao X-L(高小丽), Gao J-F(高金锋), Feng B-L(冯佰利), Chai Y(柴岩), Jia Z-K(贾志宽). Photosynthetic performance in the leaf of different mung bean genotypes. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(7): 1154–1161 (in Chinese with English abstract)
- [8] Gao X-L(高小丽), Gao J-F(高金锋), Feng B-L(冯佰利), Chai Y(柴岩), Jia Z-K(贾志宽). Leaf senescence of different mung bean varieties during their late growth. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2007, 27(5): 947–853 (in Chinese with English abstract)
- [9] Kaiser W. The effect of hydrogen peroxide on CO₂ fixation of isolated intact chloroplasts. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1976, 440: 476–482
- [10] Duan Y-X(段咏新), Li S-Q(李松泉), Fu J-R(傅家瑞). Effects of calciumon delaying senescence of leaves in hybrid rice. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1997, 12(6): 23–25 (in Chinese with English abstract)
- [11] Yang S-S(杨淑慎), Gao J-F(高俊凤). Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence. *Acta Bot Boreali-Occident Sin* (西北植物学报), 2001, 21: 215–220 (in Chinese with English abstract)
- [12] Chen Y-Q(陈毓荃). The Experimental Means and Technology of Biochemistry (生物化学实验方法和技术). Beijing: Science Press, 2002. pp 95–97, 197–199 (in Chinese)
- [13] Giannopolitis C N, Riess K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1977, 59: 309–314
- [14] Wang A-G(王爱国), Luo G-H(罗广华), Shao C-B(邵从本), Wu S-J(吴淑君), Guo J-Y(郭俊彦). A study on the superoxide dismutase of soybean seeds. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1983, 9(1): 77–83 (in Chinese with English abstract)
- [15] Qian J-Y(钱嘉渊) trans. Determination of Enzyme (酶的测定方法). Beijing: China Light Industry Press, 1992. pp 186–194 (in Chinese)
- [16] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives Biochem Biophysics*, 1968, 125: 189–198
- [17] Jiang C-M(姜春明), Yan G(燕杆), Liu X(刘霞), Wang Z-L(王振林). Response of flag leaf lipid peroxidation and protective enzyme activity of wheat cultivars with different heat tolerance to high temperature stress after anthesis. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(1): 143–148 (in Chinese with English abstract)