

不同基因型绿豆叶片衰老与活性氧代谢研究

高小丽¹, 孙健敏², 高金锋¹, 冯佰利¹, 柴岩¹, 贾志宽¹

(¹西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100; ²西北农林科技大学信息工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 【目的】研究不同基因型绿豆主茎节位各功能叶片衰老与活性氧代谢特性, 探讨绿豆叶片衰老机理, 揭示绿豆产量形成的内部生理机制, 为绿豆高产育种与栽培提供理论依据。【方法】以夏播区高产绿豆品种(系)冀绿2号、安9910和低产品种(系)泰来绿豆、赤峰绿豆为试验材料, 测定开花一成熟期各功能叶片叶绿素、可溶性蛋白质含量、酶促防御系统的保护酶SOD、CAT活性和脂质过氧化产物MDA积累量等生理指标。【结果】绿豆开花后, 随着衰老进程的推移, 各功能叶片自下向上依次衰老, 其叶绿素、可溶性蛋白质含量、SOD和CAT活性均呈下降趋势, MDA积累量持续上升。不同基因型间表现出明显差异, 与低产品种(系)相比, 高产品种(系)的叶片衰老缓慢, 生育后期仍能维持相对较高的SOD、CAT活性。【结论】绿豆叶片衰老和活性氧代谢存在着基因型差异。SOD、CAT可能参与了绿豆叶片衰老进程的调控, 并通过协同作用来保护叶片减轻活性氧伤害, 使其功能期延长, 产量提高。

关键词: 绿豆; 叶片衰老; 活性氧代谢

Leaf Aging and Reactive Oxygen Metabolism in Different Genotypes of Mung Bean

GAO Xiao-li¹, SUN Jian-min², GAO Jin-feng¹, FENG Bai-li¹, CHAI Yan¹, JIA Zhi-kuan¹

(¹College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi; ²College of Information Engineering, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi)

Abstract: 【Objective】The study was tended to examine the aging and reactive oxygen metabolisms in the leaves of different mung bean genotypes at different nodes, explore the aging mechanisms of mung bean leaves, find out the internal yield-formation mechanisms of mung bean in order to provide a theoretical basis for high-yield breeding and production of mung bean. 【Method】In the study, Jilu 2 and An9910, high-yielding varieties adopted in the summer planting region of mung bean, and Tailai mung bean and Chifeng mung bean, low-yielding varieties, were planted and the physiological indexes of their leaves, such as chlorophyll and soluble protein contents, SOD and CAT activities and MDA accumulation, were determined from flowering to ripening. 【Result】After mung bean flowered, its functional leaves aged gradually from bottom to top, and the leaves showed decreased chlorophyll and soluble protein contents, decreased SOD and CAT activities and increased MDA accumulations as they grew old. There were significant differences in different genotypes of mung beans. Compared with the leaves of the low-yielding varieties, the leaves of the high-yielding varieties aged slower and SOD at CAT maintained higher activities at the late growth stage. 【Conclusion】In mung bean, leaf aging and reactive oxygen metabolism vary depending on the genotypes. SOD and CAT probably involve in leaf-aging regulation and synergistically protect the leaves by abating the damage of reactive oxygen, as a result prolong the functional period of the leaves and raise the yield.

Key words: Mung bean; Leaf aging; Reactive oxygen metabolism

收稿日期: 2006-09-18; 接受日期: 2007-05-22

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD02B08, 2006BAD02B09); 西北农林科技大学青年科研专项基金项目(20030203044); 西北农林科技大学人才基金项目

作者简介: 高小丽(1968-), 女, 陕西宁强人, 讲师, 博士, 研究方向为小宗粮豆作物高产栽培生理及产业开发。Tel: 029-87082889; E-mail: gao2123@yahoo.com.cn。通讯作者柴岩(1951-), 男, 陕西府谷人, 教授, 研究方向为小宗粮豆作物品种资源、育种、栽培及产业开发。Tel: 13709129276; Fax: 029-87091262; E-mail: Chai.yan@163.com

0 引言

【研究意义】绿豆[Vigna radiata (L.) Wilczek]是豆科豇豆属植物中的一个栽培种,其籽粒营养丰富,医食同源,是现代绿色保健食品开发的重要资源。绿豆作为中国传统的出口产品,年出口量15~22万吨,且呈稳步上升趋势。目前,绿豆生产已成为中国在国际市场上最具有竞争力的优势产业之一。绿豆适应性强,耐旱、耐瘠,生育期短,并有固氮养地作用,在农业种植结构调整和高产、优质、高效农业发展中具有其他作物不可替代的重要作用^[1]。目前由于绿豆栽培技术落后,生产上普遍存在生育后期叶片早衰和脱落现象,严重影响了籽粒的充实和产量的进一步提高。研究认为,植物叶片的衰老与活性氧代谢有关,但长期以来,对绿豆生理特性的研究多集中在种子和幼苗^[2-6],而对其开花后功能叶片的衰老机理研究较少。因此,研究不同基因型绿豆功能叶片衰老与活性氧代谢,不仅对揭示绿豆叶片衰老机理和增产的内部生理机制具有重要意义,而且对选育高产绿豆品种和增产栽培技术体系的研究具有重要的指导价值。【前人研究进展】叶片是植物进行光合作用的主要器官,叶片的发育状况直接影响植物的生长和产量^[7]。近年来,关于植物叶片衰老与活性氧代谢的研究在小麦^[8,9]、水稻^[10-13]、花生^[14,15]、大豆^[16,17]、玉米^[18]等大宗作物中已取得很多成果,研究指出,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^[19],其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等是活性氧清除酶系统的重要保护酶^[20],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^[21]。【本研究切入点】绿豆叶腋内花序的营养主要靠开花节的光合叶片来供应^[6],关于绿豆开花节位叶片衰老与活性氧代谢的系统研究尚未见报道。【拟解决的关键问题】本研究主要研究夏播区高产和低产绿豆品种(系)开花节位各功能叶片衰老过程中与活性氧代谢有关的一些生理指标的变化特性。通过比较研究,揭示绿豆开花到成熟过程中,不同基因型绿豆不同开花节位各功能叶片的衰老与活性氧代谢特性,探讨绿豆叶片衰老机理和产量形成的内部生理机制,以期为绿豆高产育种与栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2003~2005年在西北农林科技大学农作一站进行。选用夏播区生育期(64~66 d)接近,直立型绿豆品种(系)冀绿2号、安9910、赤峰绿豆、泰来绿豆为试验材料,其中冀绿2号、安9910为高产品种(1 500.0~1 530.0 kg·ha⁻¹),赤峰绿豆、泰来绿豆为低产品种(1 180.0~1 200.0 kg·ha⁻¹)。

1.2 试验设计

试验采用随机区组排列,3次重复。小区面积20.0 m²(4.0 m×5.0 m),10行区,株距0.25 m,行距0.40 m,于6月中旬播种,苗齐后每穴留单株定苗,生育期间田间管理同大田生产。

1.3 测定方法

1.3.1 取样 通过观察,各参试品种主茎通常有9~10节,基部子叶节以上第1~5节的叶腋中主要产生分枝,第6节以上的叶腋中多着生花梗,在花梗的节瘤上着生花和豆荚,开花节位叶片的功能期长短和生长发育状况对籽粒产量影响较大。因此,本研究以主茎自子叶节向上第6、7、8、9节4个开花节位的叶片作为测定对象,并以其三出复叶的中间小叶作为该节位的代表叶片,开花后定期测定各生理指标的变化。由于参试品种各节位叶片测定指标的变化趋势基本一致,因此,论文中仅以冀绿2号、赤峰绿豆和各参试品种(系)的第6叶作图表示各项指标的动态变化。

于始花期选同一天开花且生长一致的绿豆植株,挂牌标记主茎开花节位,自开花—成熟期每隔6 d每小区选3株有代表性的标记植株作为样株,上午8:00分叶位取样,所取样品及时放于冰壶中带回实验室,分叶位测定各项指标,并以3次重复的平均值作为该节位叶片测定指标的代表值。

1.3.2 叶绿素含量测定 分叶位将叶片剪碎混匀,用80%丙酮浸提法^[22]浸提测定,按Inskeep法^[23]计算其叶绿素含量。

1.3.3 酶液制备及SOD、CAT活性和MDA、可溶性蛋白质含量测定 取0.500 g剪碎的样品,置于预冷的研钵中,加入8 ml含1% PVP的50 mmol·L⁻¹, pH 7.8的冷的磷酸缓冲液及少量石英砂,冰浴中研磨提取,匀浆于2℃ 20 000×g冷冻离心20 min,上清液即为酶提取液。用此酶液参照Ginnopolitis、Ries和王爱国等^[24,25]方法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,以Beers和Sizers改进法^[26]测定过氧化氢酶(CAT)活性,以

Heath、Packer 的硫代巴比妥酸法^[27]测定丙二醛 (MDA) 含量, 用考马斯亮蓝 G-250 蛋白染色法^[22]测定可溶性蛋白质含量。

1.4 数据处理

采用 SAS (Statistical Analysis System) V6.12 软件进行相关数据的统计分析^[28]。

2 结果与分析

2.1 不同基因型绿豆叶片叶绿素含量的动态变化

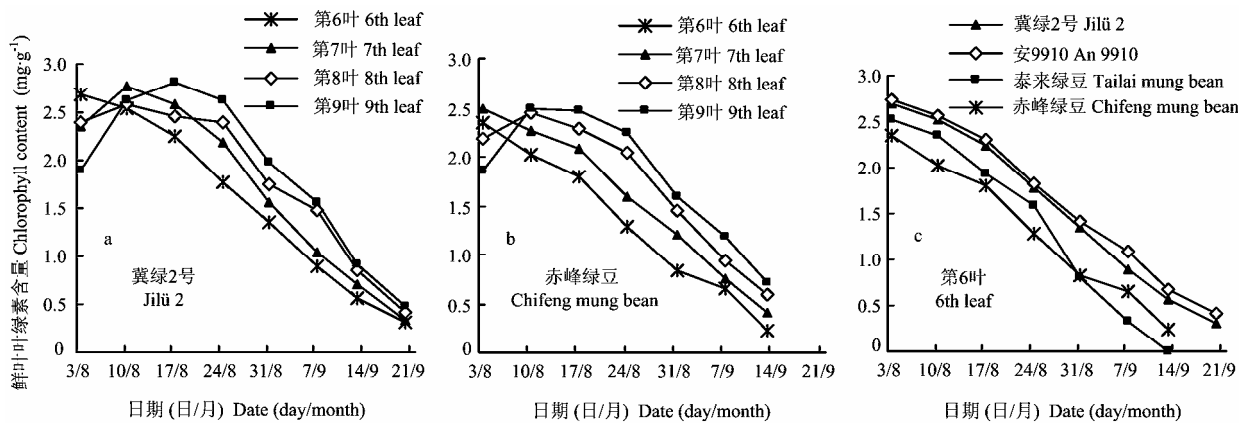


图 1 不同基因型绿豆叶片叶绿素含量的变化

Fig. 1 Changes of chlorophyll content of the leaves of different mung bean genotypes

表 1 不同基因型绿豆衰老阶段各功能叶片叶绿素含量

Table 1 Chlorophyll content of the functional leaves of different mung bean genotypes at the aging stage (mg·g⁻¹)

品种 Varieties		第 6 叶 6th leaf	第 7 叶 7th leaf	第 8 叶 8th leaf	第 9 叶 9th leaf
高产品种	冀绿 2 号 Jiliu 2	1.546 a	1.691 a	1.792 a	1.862 a
High-yield varieties	安 9910 An9910	1.627 a	1.802 a	1.884 a	1.956 a
低产品种	赤峰绿豆 Chifeng mung bean	1.147 b	1.352 b	1.494 b	1.570 b
Low-yield varieties	泰来绿豆 Tailai mung bean	1.188 b	1.308 b	1.452 b	1.509 b

同列不同字母表示在 1% 水平上差异显著。下同

Different letters in each column mean significant differences at 1% level. The same as below

2.2 不同基因型绿豆叶片可溶性蛋白质含量的变化

由图 2 可知, 绿豆开花后各功能叶片可溶性蛋白质含量呈下降趋势, 且第 9 叶 > 第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶。表 2 表明, 不同基因型品种间可溶性蛋白质含量存在极显著差异, 高产品种 (系) 冀绿 2 号和安 9910 的含量明显高于低产品种 (系) 泰来绿豆和赤峰绿豆, 生育后期尤为突出。

2.3 不同基因型绿豆叶片丙二醛 (MDA) 含量的变化

丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化作用的主要产物之

图 1 表明, 绿豆开花后, 随着叶片的伸展, 叶绿素含量增加, 叶片基本定型时达到最大值, 随后, 呈明显的下降趋势, 主茎不同节位叶片表现为第 9 叶 > 第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶。不同品种各功能叶片叶绿素含量的动态变化趋势基本一致, 但变化幅度和各时期的含量存在显著差异, 进一步多重比较表明 (表 1), 高产品种 (系) 冀绿 2 号和安 9910 各开花节位叶片平均叶绿素含量极显著地高于低产品种 (系) 赤峰绿豆和泰来绿豆。

一, 其含量可表示细胞膜系统结构和功能受伤害的程度。图 3 表明, 绿豆开花后, 随着生育进程的推进, 各功能叶片的 MDA 含量持续上升, 且第 6 叶 > 第 7 叶 > 第 8 叶 > 第 9 叶。表 3 表明, 低产品种 (系) 泰来绿豆和赤峰绿豆各功能叶片的 MDA 含量极显著地高于高产品种 (系) 冀绿 2 号和安 9910。同一节位叶片比较, 低产品种 MDA 的积累速率大于高产品种, 如 2005 年 8 月 24 日测定赤峰绿豆第 6、7、8、9 叶的 MDA 含量分别高出冀绿 2 号同节位叶片 19.9%、34.7%、

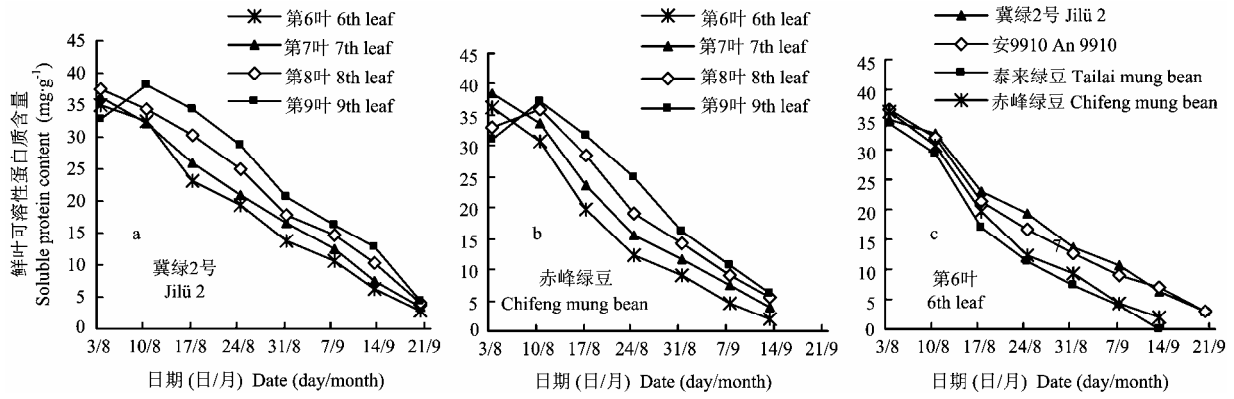


图 2 不同基因型绿豆叶片可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 2 Changes of soluble protein content of the leaves of different mung bean genotypes

表 2 不同基因型绿豆衰老阶段各功能叶片可溶性蛋白质含量

Table 2 Soluble protein content of the functional leaves of different mung bean genotypes at the aging stage (mg·g⁻¹)

品种 Varieties		第 6 叶 6th leaf	第 7 叶 7th leaf	第 8 叶 8th leaf	第 9 叶 9th leaf
高产品种 High-yield varieties	冀绿 2 号 Jilü2	17.914 a	19.456 a	21.761 a	23.541 a
	安 9910 An9910	17.330 a	19.298 a	21.522 a	23.358 a
低产品种 Low-yield varieties	赤峰绿豆 Chifeng mung bean	14.355 b	16.798 b	18.196 b	19.779 b
	泰来绿豆 Tailai mung bean	12.923 c	15.153 b	17.306 b	18.858 b

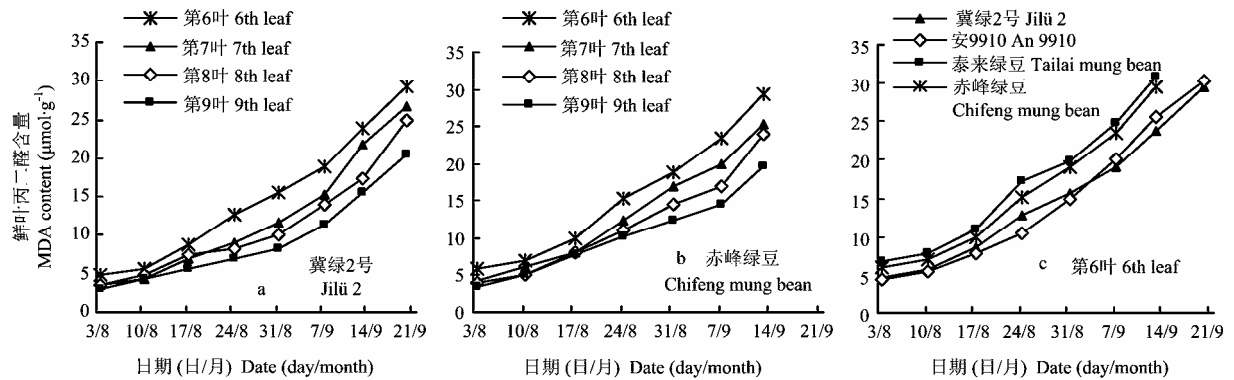


图 3 不同基因型绿豆叶片丙二醛含量的变化

Fig. 3 Changes of MDA content of the leaves of different mung bean genotypes

表 3 不同基因型绿豆衰老阶段各功能叶片丙二醛含量

Table 3 MDA content of the functional leaves of different mung bean genotypes at the aging stage (μmol·g⁻¹)

品种 Varieties		第 6 叶 6th leaf	第 7 叶 7th leaf	第 8 叶 8th leaf	第 9 叶 9th leaf
高产品种 High-yield varieties	冀绿 2 号 Jilü2	12.902 b	10.425 b	9.387 b	7.889 b
	安 9910 An9910	12.704 b	11.160 b	9.743 b	7.997 b
低产品种 Low-yield varieties	赤峰绿豆 Chifeng mung bean	15.692 a	13.287 a	12.007 a	10.464 a
	泰来绿豆 Tailai mung bean	16.862 a	13.689 a	11.879 a	10.258 a

32.1%、49.6%。

2.4 不同基因型绿豆叶片保护性酶活性的变化

由图 4 可知，随花后生育进程的推进，绿豆叶片 SOD 活性呈下降趋势，不同节位叶片 SOD 活性表现为第 9 叶 > 第 8 叶 > 第 7 叶 > 第 6 叶。开花后各功能

叶片中 CAT 的活性变化与 SOD 相似（图 5）。经多重比较表明（表 4），高产品种（系）冀绿 2 号和安 9910 各功能叶片的 SOD、CAT 活性极显著地高于低产品种（系）泰来绿豆和赤峰绿豆。

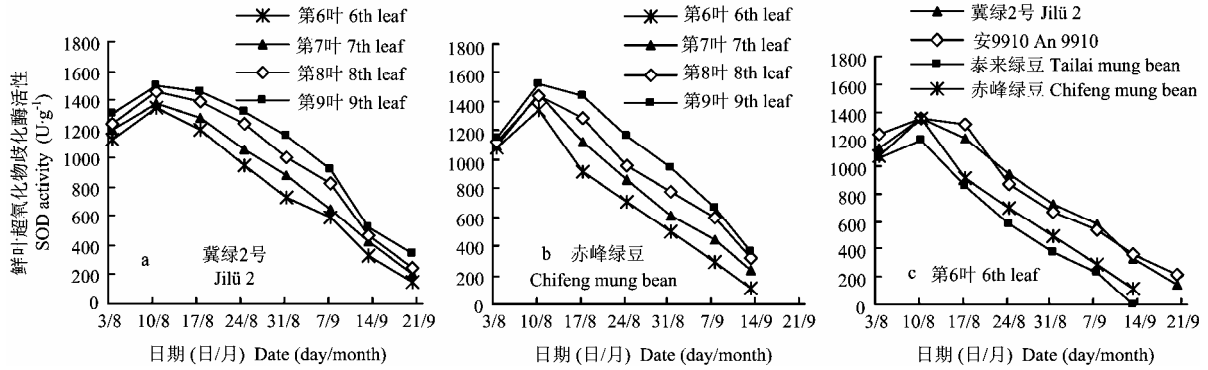


图 4 不同基因型绿豆叶片超氧化物歧化酶活性的变化

Fig. 4 Changes of SOD activity of the leaves of different mung bean genotypes

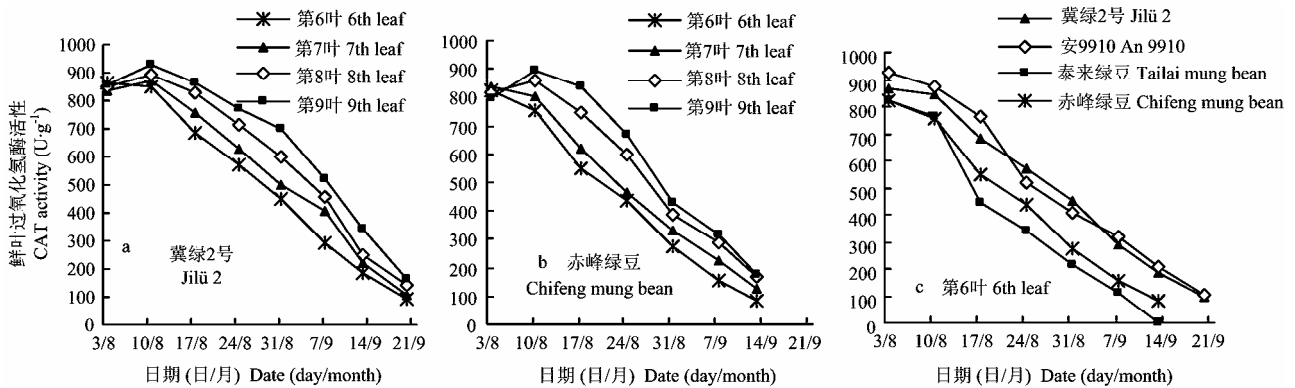


图 5 不同基因型绿豆叶片过氧化氢酶活性的变化

Fig. 5 Changes of CAT activity of the leaves of different mung bean genotypes

表 4 不同基因型绿豆衰老阶段各功能叶片 SOD、CAT 活性

Table 4 SOD and CAT activity of the functional leaves of different mung bean genotypes at the aging stage (U·g⁻¹)

品种 Varieties		第 6 叶 6th leaf		第 7 叶 7th leaf		第 8 叶 8th leaf		第 9 叶 9th leaf	
		SOD	CAT	SOD	CAT	SOD	CAT	SOD	CAT
高产品种 High-yield varieties	冀绿 2 号 Jilü 2	800.27 a	499.24 a	885.00 a	540.60 a	982.88 a	592.13 a	1065.44 a	644.27 a
	安 9910 An9910	819.58 a	515.33 a	929.68 a	561.03 a	1040.23 a	599.65 a	1125.50 a	646.77 a
低产品种 Low-yield varieties	赤峰绿豆 Chifeng mung bean	616.36 b	384.23 b	728.91 b	425.88 b	811.41 b	483.17 b	904.43 b	515.18 b
	泰来绿豆 Tailai mung bean	537.57 c	337.37 c	638.45 c	366.89 c	748.20 b	440.60 b	836.82 b	473.33 b

3 讨论

许多研究表明,植物叶绿素含量和衰老之间存在明显的负相关^[29]。本研究表明绿豆开花后,随着生育进程的推进,各开花节位功能叶片的叶绿素含量在叶片基本定型时达到最大值,随后明显下降,这与张治礼等^[30]的研究结果基本一致。但不同基因型绿豆间叶片叶绿素降解速率明显不同,若以叶绿素降解率(某一测定时期叶绿素减少量占叶绿素最大含量的百分率)表示绿豆叶片叶绿素含量变化,2005年9月7日测定结果表明,高产品种(系)冀绿2号、安9910第6叶叶绿素降解率分别为66.6%、60.4%,而低产品种(系)赤峰绿豆、泰来绿豆第6叶叶绿素降解率分别为72.3%、87.3%,其它时期各节位叶片也有类似表现。由此推断,高产品种开花节位功能叶片的衰老较慢,功能期持续时间长,有利于促进同化产物积累和籽粒灌浆。

蛋白质降解是植物叶片衰老的基本特征之一^[31],并且降解的蛋白质主要是可溶性蛋白质,可溶性蛋白质在细胞内主要以酶的形式存在,其中进行光合作用的RuBP羧化酶约占叶片可溶性蛋白的50%^[32],因此,可溶性蛋白质含量的动态变化,标志着以RuBP羧化酶为主的细胞内各类酶含量的动态变化。文汇祁等^[2]研究绿豆子叶衰老期间蛋白质代谢的变化后发现,萌发的绿豆子叶自然衰老过程中可溶性蛋白质含量一直下降。本研究也表明,随着绿豆叶片衰老,各开花节位叶片的可溶性蛋白质含量下降,但高产品种(系)下降较缓慢,尤其是生育后期仍能保持相对较高的含量,表明高产绿豆叶片光合酶活性较高,光合能力较强,这为绿豆开花结荚期维持叶片功能,增强籽粒灌浆强度奠定了基础。

许多研究指出,叶片衰老与活性氧代谢呈正相关,叶片衰老过程是体内活性氧、自由基代谢失调的累积过程^[7]。SOD、CAT活性和MDA积累量的变化反映了植物对活性氧、自由基的清除能力^[4,15]。本研究表明,绿豆叶片衰老过程中,SOD、CAT活性下降,而MDA积累量持续上升。说明叶片衰老过程中,活性氧代谢起着重要作用,随着生育进程,植株代谢产生的O₂等活性氧增加,而处于衰老阶段的叶片中SOD和CAT酶活的下降,使其清除能力下降,引起体内H₂O₂等活性氧、自由基积累,致使氧代谢失调,膜脂过氧化作用增强,引起叶绿素和蛋白质降解,叶片生理功能逐渐丧失,最终导致叶片衰老。由此可以推断,

高产绿豆品种开花节位叶片功能期持续时间较长,衰老较慢,可能与SOD、CAT酶活的降幅相对较小有关。本研究虽然表明SOD、CAT可能参与了绿豆叶片衰老进程的调控,并通过协同作用来保护叶片减轻活性氧伤害,但不同基因型品种在不同环境条件下是如何协调作用从而使活性氧伤害处在最低限度的内在机制,还需进行更为深入的研究。

4 结论

绿豆叶片的衰老源于活性氧代谢的失调,不同基因型绿豆在开花后各功能叶片衰老与活性氧代谢的动态变化趋势基本一致,即随着衰老进程的推移,叶片自下而上依次衰老,其酶促防御系统的保护酶SOD和CAT活性下降,脂质过氧化产物MDA积累量持续上升,叶绿素和可溶性蛋白质含量明显下降。但不同基因型品种间各指标的变幅和含量存在明显差异,与低产品种(系)相比,高产品种(系)各功能叶片的SOD和CAT活性高,植株生长代谢较旺盛,叶绿素和可溶性蛋白质降解慢,叶片衰老延迟,功能期延长,合成同化产物较多,籽粒产量高。因此绿豆生产中,应选育开花节位叶片功能期长,保护性酶活性高的品种,并采用外源物质,结合肥水管理等有效调控措施提高籽粒产量。

References

- [1] 林汝法,柴岩,廖琴,孙世贤. 中国小杂粮. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 192-209.
Lin R F, Chai Y, Liao Q, Sun S X. *Minor Grain Crops in China*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2002: 192-209. (in Chinese)
- [2] 文汇祁,谭保才,梁厚果. 萌发绿豆子叶衰老期间蛋白质代谢的变化. 植物生理学报, 1992, 18: 273-278.
Wen J Q, Tan B C, Liang H G. Changes in protein metabolism during senescence of mung bean cotyledons. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1992, 18: 273-278. (in Chinese)
- [3] 陈浩,曹仪植. 绿豆子叶脂氧合酶生理功能初探. 兰州大学学报(自然科学版), 1998, 34(2): 78-83.
Chen H, Cao Y Z. Preliminary studies on physiological function of lipoxygenase in mung bean cotyledon. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 1998, 34 (2): 78-83. (in Chinese)
- [4] 何宇炯,徐如涓,赵毓橘. 表油菜素内酯对绿豆幼叶衰老的促进作用. 植物生理学报, 1996, 22(1): 58-62.
He Y J, Xu R J, Zhao Y J. Enhancement of senescence by

- epibrassinolide in leaves of mung bean seedling. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1996, 22(1): 58-62. (in Chinese)
- [5] 杨素铀, 王秀春, 辛化伟, 曹仪植. 绿豆子叶衰老过程中线粒体膜对几种氨基酸的透性. 西北师范大学学报(自然科学版), 1995, 31(1): 24-29.
- Yang S Y, Wang X C, Xin H W, Cao Y Z. Permeabilities of mitochondrion membranes of mung bean cotyledons to some amino acids during senescence. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 1995, 31(1): 24-29. (in Chinese)
- [6] Kuo C G, 殷爱武. 提高绿豆产量的生理基础. 杂粮作物, 1985, (2): 39-41.
- Kuo C G, Yin A W. Physiological basis on increasing mungbean yield. *Rain Fed Crops*, 1985, (2): 39-41. (in Chinese)
- [7] 杨淑慎, 高俊凤, 李学俊. 高等植物叶片的衰老. 西北植物学报, 2001, 21: 1271-1277.
- Yang S S, Gao J F, Li X J. Leaf senescence in higher plant. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2001, 21: 1271-1277. (in Chinese)
- [8] 杨淑慎, 高俊凤, 李学俊, 吕金印, 高梅. 杂交春性小麦叶片衰老与保护酶系统活性的研究. 中国农业科学, 2004, 37: 460-463.
- Yang S S, Gao J F, Li X J, Lü J Y, Gao M. Leaf senescence and protective enzyme system of spring wheat hybrid. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37: 460-463. (in Chinese)
- [9] 冯佰利, 高小丽, 王长发, 张嵩午, 李生秀. 干旱条件下不同温型小麦叶片衰老与活性氧代谢特性的研究. 中国生态农业学报, 2005, 13(4): 74-76.
- Feng B L, Gao X L, Wang C F, Zhang S W, Li S X. Leaf senescence and active oxygen metabolism of different-type wheats under drought. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2005, 13(4): 74-76. (in Chinese)
- [10] 陆定志, 潘裕才, 马跃芳, 林宗达, 鲍为群, 金逸民, 游树鹏. 杂交水稻抽穗结实期间叶片衰老的生理生化研究. 中国农业科学, 1988, 21(3): 21-26.
- Lu D Z, Pan Y C, Ma Y F, Lin Z D, Bao W Q, Jin Y M, You S P. Physiological and biochemical studies on leaf senescence at heading and grain formation stage in hybrid rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 1988, 21(3): 21-26. (in Chinese)
- [11] 段俊, 梁承邳, 黄毓文. 杂交水稻开花结实期间叶片衰老. 植物生理学报, 1997, 23(2): 139-144.
- Duan J, Liang C Y, Huang Y W. Studies on leaf senescence of hybrid rice at flowering and grain formation stage. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1997, 23(2): 139-144. (in Chinese)
- [12] 朱诚, 傅亚萍, 孙宗修. 超高产水稻开花结实期间叶片衰老与活性氧代谢的关系. 中国水稻科学, 2002, 16: 326-330.
- Zhu C, Fu Y P, Sun Z X. Relationship between leaf senescence and activated oxygen metabolism in super high yielding rice during flowering and grain formation stage. *Chinese Journal of Rice Science*, 2002, 16: 326-330. (in Chinese)
- [13] 王旭军, 徐庆国, 杨知建. 水稻叶片衰老生理的研究进展. 中国农学通报, 2005, 21(3): 187-190.
- Wang X J, Xu Q G, Yang Z J. Advances of research on rice leaf senescence physiology. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(3): 187-190. (in Chinese)
- [14] 李向东, 王晓云, 张高英, 万勇善, 李军. 花生叶片衰老与活性氧代谢. 中国油料作物学报, 2001, 23(2): 31-34.
- Li X D, Wang X Y, Zhang G Y, Wan Y S, Li J. Leaf senescence and the metabolism of active oxygen in peanut. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2001, 23(2): 31-34. (in Chinese)
- [15] 李向东, 王晓云, 张高英, 万勇善, 李军. 花生叶片衰老过程中某些酶活性的变化. 植物生理学报, 2001, 27: 353-358.
- Li X D, Wang X Y, Zhang G Y, Wan Y S, Li J. Changes in some enzyme activities of peanut leaves during leaf senescence. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 2001, 27: 353-358. (in Chinese)
- [16] 许长成, 邹琦. 大豆叶片早促衰老及其与膜脂过氧化的关系. 作物学报, 1993, 19: 359-364.
- Xu C C, Zou Q. The acceleration of senescence of soybean leaves induced by drought and its relation to membrane lipid peroxidation. *Acta Agronomica Sinica*, 1993, 19: 359-364. (in Chinese)
- [17] 许守民, 石连旋, 胡波, 朱长甫, 邓聪慧, 高立琴. 大豆叶片衰老过程中光合作用与有关酶活性变化的研究. 东北师大学报(自然科学版), 1997, (4): 70-73.
- Xu S M, Shi L X, Hu B, Zhu C F, Deng C H, Gao L Q. Changes in photosynthetic capacity and related enzyme activities during soybean (*Glycine max*) leaf senescence. *Journal of Northeast Normal University (Natural Science)*, 1997, (4): 70-73. (in Chinese)
- [18] 王空军, 胡昌洁, 董树亭, 刘开昌, 孙庆泉. 中国不同年代玉米品种开花后叶片保护酶活性及膜脂过氧化作用的演进. 作物学报, 1999, 25: 700-706.
- Wang K J, Hu C J, Dong S T, Liu K C, Sun Q Q. Changes of the protective enzyme activities and lipid peroxidation after anthesis among maize varieties planted in different years. *Acta Agronomica Sinica*, 1999, 25: 700-706. (in Chinese)
- [19] Kaiser W. The effect of hydrogen peroxide on CO₂ fixation of isolated intact chloroplasts. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1976, 440: 476-482.
- [20] 段咏新, 李松泉, 傅家瑞. 钙对延缓杂交水稻叶片衰老的作用机理. 杂交水稻, 1997, 12(6): 23-25.

- Duan Y X, Li S Q, Fu J R. Effects of calcium on delaying senescence of leaves in hybrid rice. *Hybrid Rice*, 1997, 12(6): 23-25. (in Chinese)
- [21] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老. 西北植物学报, 2001, 21: 215-220.
- Yang S S, Gao J F. Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2001, 21: 215-220. (in Chinese)
- [22] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术. 北京: 科学出版社, 2002: 95-97, 197-199.
- Chen Y Q. *The Experimental Means and Technology of Biochemistry*. Beijing: Science Press, 2002: 95-97, 197-199. (in Chinese)
- [23] 苏正淑, 张宪政. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较. 植物生理学通讯, 1989, (5): 77-78.
- Su Z S, Zhang X Z. Comparison of several methods measuring chlorophyll content in plant. *Plant Physiology Communications*, 1989, (5): 77-78. (in Chinese)
- [24] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [25] 王爱国, 罗广华, 邵从本, 吴淑君, 郭俊彦. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77-83.
- Wang A G, Luo G H, Shao C B, Wu S J, Guo J Y. A study on the superoxide dismutase of soybean seeds. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1983, 9(1): 77-83. (in Chinese)
- [26] 钱嘉渊译. 酶的测定方法. 北京: 中国轻工业出版社, 1992: 186-194.
- Translated by Qian J Y. *Determination of Enzyme*. Beijing: China Light Industry Press, 1992: 186-194. (in Chinese)
- [27] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, 125: 189-198.
- [28] 胡小平, 王长发. SAS 基础及统计实例教程. 西安: 西安地图出版社, 2001: 73-85.
- Hu X P, Wang C F. *SAS Basic and Statistical Example Course*. Xi'an: Xi'an Map Press, 2001: 73-85. (in Chinese)
- [29] Martin C, Thimann K V. The role of protein synthesis in the senescence of leaves I. The formation of protease. *Plant Physiology*, 1972, 49: 64-71.
- [30] 张治礼, 郑学勤. 油菜叶片自然衰老过程中部分生理指标的变化规律. 中国油料作物学报, 2004, 26(2): 47-50.
- Zhang Z L, Zheng X Q. Changes of several physiological indexes in process of rape leaf senescence. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2004, 26(2): 47-50. (in Chinese)
- [31] 吴光南, 刘宝仁, 张金渝. 水稻叶片蛋白水解酶的某些理化特性及其与衰老的关系. 江苏农业学报, 1985, 1(1): 1-8.
- Wu G N, Liu B R, Zhang J Y. Proteases in rice leaves-some chemical and physical properties and activities in relation to senescence. *Journal of Agricultural Science*, 1985, 1(1): 1-8. (in Chinese)
- [32] Patterson T G, Moss D N, Brun W A. Enzymatic changes during the senescence of field-grown wheat. *Crop Science*, 1980, 20: 15-18.

(责任编辑 吴晓丽, 郭银巧)