

甘蔗成熟期叶鞘纤维素酶活性对自然脱落的影响

樊仙, 刘少春*, 高欣欣, 刀静梅, 邓军

云南农业科学院甘蔗研究所, 云南省甘蔗遗传改良重点实验室, 云南开远661600

摘要: 采用脱叶性不同的4个甘蔗品种为材料, 研究了在成熟期叶鞘纤维素酶活性对蔗叶脱落的影响。结果表明, 纤维素酶活性影响甘蔗叶片脱落, 在收获期叶鞘纤维素酶活性与植株脱落率均达到最高。不同叶位中, +10叶位纤维素酶活性最高。相关性分析表明, 4个甘蔗品种的正10叶位叶鞘纤维素酶活性与脱落率呈正相关。

关键词: 甘蔗; 叶鞘; 纤维素酶; 脱落率

Effect of Cellulose Activity on Abscission Rate of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Leaf Sheath in Mature Period

FAN Xian, LIU Shao-Chun*, GAO Xin-Xin, DAO Jing-Mei, DENG Jun

Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Key Laboratory of Sugarcane Genetics Improvement, Kaiyuan, Yunnan 661600, China

Abstract: Four sugarcane varieties with different leaf abscission rates were used in this experiment to study the effects of cellulose activity on leaf abscission rate in mature period of sugarcane. The results showed that, the cellulose activity affected the leaf abscission rate of sugarcane, and in the harvest period the cellulose activity and leaf abscission rate both reached the highest. The cellulose activity of +10 leaves sheath from same varieties was the highest. The results of correlation analysis revealed that the cellulose activity of +10 leaf sheath was positively correlated with the abscission rate.

Key words: sugarcane (*Saccharum officinarum*); leaf sheath; cellulase; abscission rate

甘蔗是世界上主要的糖料作物, 我国常年甘蔗种植面积 $153.33 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 产糖量 $1073 \times 10^4 \text{ t}$, 居世界第三(张跃彬等2011)。而我国原料甘蔗收获主要依靠手工作业, 用工量占整个甘蔗生产过程用工量的55%, 其中甘蔗剥叶用工量为整个收获用工量的65% (Srivastava和Singh 1990; Singh等2011)。甘蔗脱叶性是选育甘蔗新品种的重要指标, 在选育种过程中, 很多其他性状良好的甘蔗品种因为脱叶性差、缺乏推广价值而遭淘汰。

脱落是植物细胞组织或器官与植物体分离的过程, 是一种普遍存在的生理现象。纤维素酶(cellulase)是与脱落有关的酶(潘瑞焯和董愚得1995), 它可以降解细胞壁的纤维素和半纤维素(Abeles和Rubinstei 1964)。有研究表明, 纤维素酶活性与叶片脱落进程有着密切的关系(Gonzalez-Carranza等2002; Clements和Atkins 2001; Bonghi等1992; 柴国华等200)。纤维素酶被认为是影响大豆、龙眼和番茄等叶柄外植体脱落的主要酶(Tucker等1988; 李晓红等2007; 宋莉萍等2011a; 刘志成等1997), 但

其对甘蔗叶片脱落的影响的研究报道尚少见。为此, 本文对4个甘蔗品种不同叶位叶鞘纤维素酶活性与叶片脱落率进行相关性分析, 探讨甘蔗叶鞘纤维素酶活性与自然脱落的关系, 从生理水平上研究蔗叶脱落机理, 为探索调控甘蔗脱叶农艺技术和选育自然脱叶性状良好的甘蔗新品种提供依据。

材料与amp;方法

1 试验材料与设计

采用脱叶性不同的甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)品种‘云蔗01-1413’、‘闽糖69-421’、‘福农30号’和‘云蔗99-91’。种茎于2012年3月3日在云南省农业科学院甘蔗研究所冷水沟甘蔗试验地下种植, 供试材料实验地基本土壤肥力为: 有机质 $20.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,

收稿 2013-06-19 修定 2013-09-14

资助 国家自然科学基金(31160257)。

* 通讯作者(E-mail: ynlushch@163.com; Tel: 0873-7225691)。

全氮 $1.64 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全磷 $0.67 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全钾 $13.7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 碱解氮 $80.79 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效磷 $9.81 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾 $112.78 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 6.0。甘蔗整个生育期田间栽培管理措施与大田管理相同。分别于成熟早期(11月30日)、成熟中期(12月30日)和收获期(次年1月30日)3个成熟阶段, 选择生长一致的4株甘蔗进行+2(甘蔗植株从上部往下数, 叶片完全展开的第一叶为+1叶位, 位于+1叶下面的叶片为+2叶位, 依此类推)、+5和+10叶位取样, 切取整片甘蔗叶鞘, 取样后迅速将鲜样经液氮速冻后, 于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中保存, 用于酶活性的测定。测定时重复3次。

2 测定项目与方法

取甘蔗叶鞘 3.000 g , 在 $0\sim 4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰浴中研磨提取, 提取液完全转移到 50 mL 烧杯中, 加入 40 mL 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 5.5), 磁力搅拌 30 min , 再用缓冲液定容, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存 24 h 。摇匀, 取 50 mL 于离心管中, $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 3 min , 取上清液 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 作为纤维素酶粗提液。

纤维素酶活性测定参照张敏等(2012)的方法, 以羧甲基纤维素为底物, 测定酶反应产物还原糖含量代表酶活性, 采用3,5-二硝基水杨酸比色法, 测定反应体系中还原糖的含量。以每小时生成 1 mg 的还原糖作为1个酶活性单位。

选择生长正常、未受人为因素影响的甘蔗植株10株, 调查叶片总数、自然脱落的叶片数和+10叶位叶片脱落数, 计算整株甘蔗的叶片自然脱落

率和+10叶位叶片脱落率。

试验数据采用Excel 2003和SPSS 17.0统计软件进行处理, 统计方法采用单因素的方差分析(ANOVA), 并用LSD法检验 $P<0.01$ 水平上的差异显著性。

实验结果

1 不同时期4个甘蔗品种叶鞘纤维素酶活性

从表1可以看出, 4个供试品种相同叶位叶鞘的纤维素酶活性均随甘蔗成熟而逐渐升高, 收获期的纤维素酶活性显著高于成熟早期和成熟中期。同一品种不同叶位的叶鞘纤维素酶活性存在显著的差异, 表现为老叶位的叶鞘纤维素酶活性高于嫩叶位的, +2叶位 $<$ +5叶位 $<$ +10叶位。甘蔗叶鞘脱落自老叶位始, +2和+5叶位叶鞘组织幼嫩, 为营养生长节位, 成熟期甘蔗养分满足生长的需要, 纤维素酶分泌较少, 在不同生长阶段一直未见叶鞘脱落。随着甘蔗茎节长粗, 蔗叶生长, 纤维素酶分泌增多, 酶活性增强

成熟期不同阶段, ‘闽糖69-421’+2叶位叶鞘纤维素酶活性最高, 其次为‘福农30号’, 而‘云蔗01-1413’酶活性最低。+5叶位叶鞘纤维素酶活性也以‘闽糖69-421’最高, ‘云蔗99-91’最低。成熟早期+10叶位叶鞘纤维素酶活性以‘闽糖69-421’最高, 但在成熟中期和收获期, ‘云蔗01-1413’+10叶位叶鞘纤维素酶活性最高, ‘云蔗99-91’最低。

表1 不同时期甘蔗叶鞘纤维素酶活性

Table 1 Cellulose activities of sugarcane leaf sheaths in different periods

叶位	甘蔗品种	叶鞘纤维素酶活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$		
		成熟早期	成熟中期	收获期
+2	‘云蔗01-1413’	$16.27\pm 0.62^{\text{b}}$	$19.94\pm 1.43^{\text{a}}$	$19.64\pm 0.12^{\text{a}}$
	‘闽糖69-421’	$28.09\pm 0.49^{\text{c}}$	$34.47\pm 0.23^{\text{bb}}$	$38.49\pm 0.21^{\text{aa}}$
	‘福农30号’	$23.61\pm 0.36^{\text{bb}}$	$24.51\pm 0.21^{\text{bb}}$	$26.32\pm 0.21^{\text{aa}}$
	‘云蔗99-91’	$19.60\pm 0.62^{\text{c}}$	$24.14\pm 0.26^{\text{bb}}$	$26.57\pm 0.08^{\text{aa}}$
+5	‘云蔗01-1413’	27.97 ± 0.51	27.79 ± 7.68	27.47 ± 0.41
	‘闽糖69-421’	$31.71\pm 0.55^{\text{c}}$	$37.12\pm 0.45^{\text{bb}}$	$40.94\pm 0.93^{\text{aa}}$
	‘福农30号’	$26.13\pm 0.37^{\text{c}}$	$27.66\pm 0.26^{\text{b}}$	$34.63\pm 3.08^{\text{a}}$
	‘云蔗99-91’	$20.45\pm 1.63^{\text{bb}}$	$20.85\pm 0.34^{\text{bb}}$	$26.41\pm 0.29^{\text{aa}}$
+10	‘云蔗01-1413’	$34.78\pm 0.85^{\text{c}}$	$42.67\pm 0.33^{\text{bb}}$	$47.39\pm 0.23^{\text{aa}}$
	‘闽糖69-421’	$35.77\pm 0.50^{\text{bc}}$	$38.15\pm 0.39^{\text{bb}}$	$42.05\pm 0.77^{\text{aa}}$
	‘福农30号’	$28.86\pm 0.40^{\text{c}}$	$33.81\pm 0.41^{\text{bb}}$	$38.54\pm 0.16^{\text{aa}}$
	‘云蔗99-91’	$28.15\pm 0.67^{\text{c}}$	$33.64\pm 0.35^{\text{bb}}$	$37.69\pm 0.09^{\text{aa}}$

同一行小写字母分别表示差异达0.05和0.01水平显著, 下表同此。

2 不同时期4个甘蔗品种的叶片脱落率

表2表明, +2叶位和+5叶位甘蔗叶鞘均未见脱落, 因甘蔗品种不同, +10叶位甘蔗叶鞘脱落表现不一。‘福农30号’和‘云蔗99-91’+10叶位叶鞘未见脱落, 脱落率均为0。‘闽糖69-421’和‘云蔗01-1413’+10叶位叶鞘在成熟早期已出现脱落, 且脱落率在收获期达到最高, 极显著高于成熟早期。

如图1所示, 不同甘蔗品种在成熟期的整株叶片脱落率变化一致, 呈逐渐上升趋势, 收获期>成熟中期>成熟早期。同一时期不同甘蔗品种的脱落率均表现为‘闽糖69-421’>‘云蔗01-1413’>‘福农30号’>‘云蔗99-91’。方差分析表明, 不同甘蔗品种间脱落率存在显著差异。成熟早期, ‘闽糖69-421’脱落率显著高于‘云蔗99-91’, 且分别较‘福农30号’、‘云蔗99-91’和‘云蔗01-1413’高12.66%、

15.52%和2.85%。在成熟中期和收获期, ‘闽糖69-421’和‘云蔗01-1413’的脱落率均极显著高于其它甘蔗品种, 且以‘闽糖69-421’脱落率最高, 分别为39.17%和49.70%。

3 甘蔗叶鞘纤维素酶活性与叶片脱落率的关系

由表3可看出, ‘云蔗01-1413’叶鞘纤维素酶活性与整株甘蔗叶片脱落率间呈正相关, 酶活性与+2、+5叶位相关性不显著, 与+10叶位极显著。‘闽糖69-421’叶鞘纤维素酶活性与整株甘蔗脱落率间呈显著正相关, 且+2、+5叶位达到极显著水平。‘福农30号’和‘云蔗99-91’叶鞘纤维素酶活性与整株甘蔗脱落率间呈不显著正相关。

表2 不同甘蔗品种+10叶位叶鞘自然脱落率

Table 2 Abscission rate of +10 sugarcane leaf sheaths of different varieties

甘蔗品种	+10叶位叶鞘脱落率/%		
	成熟早期	成熟中期	收获期
‘云蔗01-1413’	13.33±0.94 ^{Bb}	26.67±1.12 ^{Aa}	30.00±1.74 ^{Aa}
‘闽糖69-421’	20.00±0.37 ^{Bc}	30.00±0.93 ^{Ab}	33.33±1.28 ^{Aa}
‘福农30号’	0	0	0
‘云蔗99-91’	0	0	0

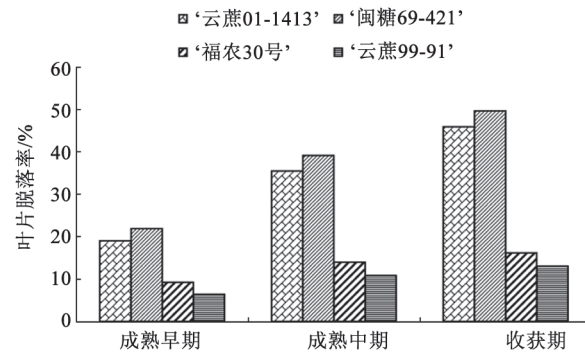


图1 不同甘蔗品种整株叶片脱落率的比较

Fig.1 Comparison of abscission rates in sugarcane leaf of different varieties

表3 成熟期叶鞘纤维素酶活性与脱落率的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between cellulose activity and abscission rate in the mature period

甘蔗品种	+2叶位		+5叶位		+10叶位	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
‘云蔗01-1413’	0.892	0.229	0.959	0.184	0.999	0.010
‘闽糖69-421’	0.999	0.006	0.999	0.025	0.997	0.007
‘福农30号’	0.922	0.253	0.848	0.356	0.982	0.123
‘云蔗99-91’	0.919	0.236	0.795	0.415	0.995	0.065

*r*为相关系数, *P*为相关性显著水平。

讨 论

纤维素酶是影响植物器官脱落的重要酶之一, 在植物器官脱落中发挥着重要作用(潘瑞炽和董愚得1995)。大量试验结果表明, 纤维素酶活性与植物器官脱落有关。殷晓军和张继澎(2001)研究发现, 将离体脱涩火柿35 °C热激处理后, 纤维素酶活

性明显降低, 防止了软化。邱栋梁等(2004)模拟酸雨对龙眼幼果进行处理, 发现酸雨胁迫下纤维素酶活性均高于正常幼果, 促进幼果脱落。宋莉萍等(2011a)研究表明, 喷施植物生长调节剂影响大豆花荚纤维素酶活性, 从而影响花荚的脱落率。本文试验采用的甘蔗品种‘云蔗01-1413’和‘闽糖

69-421'为自然易脱叶型, '福农30号'和'云蔗99-91'为自然难脱叶型。研究表明, 4个甘蔗品种成熟期不同叶位叶鞘纤维素酶活性与脱落率呈正相关, 且'云蔗01-1413'和'闽糖69-421'叶鞘纤维素酶活性与其脱落率间呈极显著正相关。说明纤维素酶活性对甘蔗叶片脱落起到积极的作用。

甘蔗成熟期, 4个品种不同叶位的叶鞘纤维素酶活性随成熟进程持续上升, 但+2、+5叶位叶鞘一直未见脱落, 且同一叶位不同品种叶鞘纤维素酶活性差异明显。这一结果可能与不同品种间其他内源物质的差异及其相互协同作用有关。叶片脱落是各种环境因素与其体内多种物质共同作用的结果(Taylor和Whitelaw 2001)。王权帅等(2009)认为植物体内的许多激素和非激素类物质(扩展蛋白、 H_2O_2 、细胞壁水解酶等)都参与脱落过程的调控, 而且是相互协同配合, 共同发挥作用。器官脱落过程中, 纤维素酶、果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶的活性均有所提高, 但在不同植物品种和不同器官中, 各种酶所起到的作用不同(齐明芳等2010; 宋莉萍等2011b), 如龙眼脱落幼果的纤维素酶活性与落果率间具有显著相关性, 而果胶酶活性其影响却不甚明显(刘志成等1997)。Mishra等(2008)研究得出, IAA处理能显著抑制棉花幼苗叶片的脱落。乙烯不仅能引起纤维素酶的合成, 而且还能把合成的纤维素酶运输到细胞壁上(Gonzalez-Carranza等1998; Abeles和Leather 1971)。Kalaitzis等(1997)从番茄叶柄与果柄离区中分离出的3种与脱落相关的PG。尽管有关学者对脱落机理进行了大量充分的研究, 也取得了一定的进展, 但甘蔗脱落的作用机理的研究尚未见报道, 因此需要更加深入地了解各种酶及激素之间的相互关系, 为解决实际问题以及甘蔗品种的繁育改良提供坚实的理论基础。本研究认为, 关于纤维素酶活性对甘蔗自然脱落的影响还应从甘蔗内源激素和果胶酶等相关酶活性方面进行深入的研究。

参考文献

柴国华, 王成社, 黄晓刚, 刘永年(2006). 逆境对大豆脱落纤维素酶基因时间表达模式的影响. 西北植物学报, 26 (3): 0442~0446

- 李晓红, 齐明芳, 李天来, 王倩, 许宏伟(2007). 不同温度处理对番茄离体花柄脱落及其相关酶活性的影响. 沈阳农业大学学报, 38 (6): 780~783
- 刘志成, 苏明华, 庄伊美(1997). 龙眼生理落果中的纤维素酶、果胶酶活性及脱落酸含量. 热带亚热带植物学报, 5 (3): 39~42
- 潘瑞焱, 董愚得(1995). 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 312~314
- 齐明芳, 许涛, 郭泳, 李天来(2010). 园艺植物器官脱落研究进展. 沈阳农业大学学报, 41 (6): 643~648
- 邱栋梁, 刘星辉, 郭素枝(2004). 模拟酸雨对龙眼幼果纤维素酶活性和内源激素含量的影响. 应用与环境生物学报, 10 (1): 035~038
- 宋莉萍, 刘金辉, 郑殿峰, 冯乃杰(2011a). 不同时期PGRs对大豆花荚脱落率及纤维素酶活性的影响. 中国油料作物学报, 33 (3): 253~258
- 宋莉萍, 刘金辉, 郑殿峰, 冯乃杰(2011b). 不同时期叶喷施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. 植物生理学报, 47 (4): 356~362
- 王权帅, 赵丹莹, 申琳, 生吉萍(2009). 脱落调节物质对植物器官脱落的调控. 西北植物学报, 29 (11): 2352~2359
- 殷晓军, 张继澎(2001). 热处理对脱涩后火柿生理生化变化的影响. 西北植物学报, 21 (6): 1152~1156
- 张敏, 邢永雷, 李成涛, 张坤, 宋吉青(2012). PBS共聚物对蚯蚓的蛋白质含量和纤维素酶活性的影响. 生态环境学报, 21 (7): 1334~1338
- 张跃彬, 邓军, 黄应昆, 郭家文, 刘少春, 吴才文, 吴正焜, 杨华, 毛永雷, 尹卫东(2011). 中国甘蔗产业发展技术. 北京: 中国农业出版社, 3~4
- Abeles FB, Leather GR (1971). Abscission: control of cellulase secretion by ethylene. *Planta (Berl)*, 97: 87~91
- Abeles FB, Rubinstein B (1964). Regulation of ethylene evolution and leaf abscission by auxin. *Plant Physiol*, 39: 963~969
- Bonghi C, Rascio N, Raminan A, Casadoro G (1992). Cellulase and polygalacturonase involvement in the abscission of leaf and fruit explants of peach. *Plant Mol Biol*, 20: 839~848
- Clements J, Atkins C (2001). Characterization of a non-abscission mutant in *Lupinus angustifolius* L.: physiological aspects. *Amer J Bot*, 88 (1): 31~42
- Gonzalez-Carranza ZH, Lozoya-Gloria E, Roberts JA (1998). Recent developments in abscission: shedding light on the shedding process. *Trends Plant Sci*, 3 (1): 10~14
- Gonzalez-Carranza ZH, Whitelaw CA, Swarup R, Roberts JA (2002). Temporal and spatial expression of a polygalacturonase during leaf and flower abscission in oilseed rape and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 128: 534~543
- Kalaitzis P, Solomo T, Tueker ML (1997). Three different polygalac-

- turonases are expressed in tomato leaf and flower abscission, each with a different temporal expression pattern. *Plant Physiol*, 113: 1303~1308
- Mishra A, Khare S, Trivedi PK, Nath P (2008). Effect of ethylene, 1-MCP, ABA and IAA on break strength, cellulase and polygalacturonase activities during cotton leaf abscission. *South African Bot*, 74 (2): 282~287
- Singh J, Singh AK, Sharma MP, Singh PR, Srivastava AC (2011). Mechanization of sugarcane cultivation in India. *Sugar Tech*, 13 (4): 310~314
- Srivastava AC, Singh K (1990). Development of a power-driven sugarcane detrasher. *AMA*, 21 (2): 49~52
- Taylor JE, Whitelaw CA (2001). Signals in abscission. *New Phytol*, 151: 323~339
- Tucker ML, Sexton R, Lewis LN, Campillo ED, Lewis LN (1988). Bean abscission cellulase. Characterization of a cDNA clone and regulation of gene expression by ethylene and auxin. *Plant Physiol*, 88: 1257~1262