

# 干旱胁迫对银杏衰老期叶片生理生化特性的影响

刘 丹, 唐加红, 杨玉兰, 李 稳, 崔红云, 陈国祥

(南京师范大学 生命科学学院 江苏 南京 210046)

**摘 要:**以银杏 5 a 生盆栽实生苗为材料, 通过自然干旱处理, 研究干旱对银杏衰老期叶片部分生理指标的影响。结果表明: 与对照相比, 处理组叶绿素含量下降; 电导率和 MDA 含量上升; SOD 和 CAT 的活力先上升后下降; 脯氨酸逐渐积累, 可溶性蛋白含量呈现先上升后下降的趋势。说明随着干旱胁迫的加剧, 引起了膜脂氧化加剧, 加快了银杏叶片的衰老。

**关键词:** 银杏; 干旱胁迫; 叶片衰老; 生理指标

**中图分类号:** Q 945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)09-0070-04

银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 是中生代子遗的古老种植物, 俗称白果树、公孙树, 有世界“金色活化石”之称, 是我国特有的著名多用途珍稀树种<sup>[1]</sup>。银杏集食用、药用、保健、化妆、用材、绿化、观赏于一体<sup>[2]</sup>, 具有较高的经济价值和生态效益。

植物叶片衰老的过程中, 叶绿素加速分解、蛋白质迅速丧失, 叶片黄化<sup>[3-4]</sup>; 氧自由基在植物体内逐渐地积累, 而其清除能力则不断地下降。由氧自由基引发的膜脂过氧化产物 MDA 积累以及与氧自由基清除能力有关的抗氧化酶 (SOD、CAT 等) 活性下降。

干旱条件下, 植物体内代谢失调, 细胞内产生过剩的活性氧自由基, 引发或加剧膜脂质过氧化, 从而造成细胞膜系统损伤, 导致其膜透性增大。已有研究表明<sup>[5]</sup>, 干旱条件下, 膜脂过氧化作用引起叶片叶绿素合

成受阻, 降解加快, 其含量迅速下降。干旱降低保护酶活性, 氧自由基产生于清除的平衡遭到破坏, 对细胞及组织造成伤害, 最终导致叶片衰老死亡。近年来, 关于干旱条件下衰老期植物叶片的研究集中于小麦<sup>[6]</sup>、水稻<sup>[7]</sup>、玉米<sup>[8]</sup>等作物中, 关于银杏衰老期叶片对干旱的响应尚未见详细报道。现研究干旱处理下银杏衰老期叶片叶绿素含量、电导率和 MDA 含量、保护酶活性及渗透物质的变化, 以期对银杏在干旱及半干旱地区种植提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取 5 a 生的大佛指银杏实生苗, 2009 年 3 月移植到南京师范大学植物园。定植于内径 30 cm、高 38 cm 的塑料花盆中, 每盆 1 株。试验于 2009 年 9 月 10 日至 10 月 30 日在塑料大棚内进行。

### 1.2 试验方法

试验设对照组和处理组 (对照和处理分别为 20 株); 对照组是给苗木浇清水至饱和, 以后每天持续浇灌清水; 处理组是先给苗木浇灌清水至饱和, 以后 50 d 内不再浇水。2 种处理每隔 10 d 在苗木的同一部位取叶片样品进行生理生化指标测试。

**第一作者简介:** 刘丹 (1986-), 女, 在读硕士, 现主要从事植物生理生化的研究工作。E-mail: liudan8484@163.com。

**责任作者:** 陈国祥 (1963-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物生理生化。E-mail: gxchen@njnu.edu.cn。

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (30771299)。

**收稿日期:** 2011-03-11

## 2.5 利用夏季径流水及冬季积雪

近几年渭北旱塬推广果园集雨水窖, 收集自然降水, 在苹果急需水时和穴施肥水法结合起来。冬季下大雪后, 将果园地埂、道路上的雪收集堆放到树盘下, 以此增加土壤水分, 还可以预防冻害。

## 2.6 其它配套抗旱栽培方法

对于未生草的果园, 降雨后及时浅耕松土, 破坏毛细孔, 减少水份的蒸发, 使水份供应延长, 达到保墒的目

的。深翻扩穴法: 深翻扩穴在深秋结合施基肥进行, 一般在中熟品种采收后进行, 此时正是苹果树根系生长高峰时期, 新根发生较多, 断根后根系好愈合, 还有利于冬季保墒。

在采用以上抗旱措施的同时, 进行恰当的夏季修剪、合理负载、及时做好病虫害防治等常规的管理也是渭北旱区苹果获得优质高产的重要因素。各种手段协调、配套使用是成功的关键。

1.3 指标测定方法

叶绿素含量测定参照 Amon<sup>[9]</sup> 的方法测定; 电导率参照邹琦<sup>[10]</sup> 的方法测定; MDA (丙二醛) 含量测定参照赵世杰等<sup>[11]</sup> 的硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定; SOD (超氧化物歧化酶)活性参照李合生<sup>[12]</sup> 的 NBT 法测定; CAT (过氧化物酶)活性参照李建勋<sup>[13]</sup> 的方法; 脯氨酸含量测定参照朱广廉<sup>[14]</sup> 的磺基水杨酸法; 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝染色法测定。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 13.0 软件对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 干旱对银杏衰老期叶片叶绿素含量的影响

叶片是植物进行光合作用的主要器官, 叶绿素是光合作用中最重要和最有效的色素, 是反映光合作用强度的重要指标<sup>[15]</sup>。由图 1 可知 对照组和处理组叶绿素含量均逐渐下降, 处理组叶绿素含量平均低于对照 47.68%, 差异显著( $P<0.05$ )。说明干旱条件下, 银杏衰老期叶片叶绿素的含量显著下降, 其光合能力有一定程度的下降。

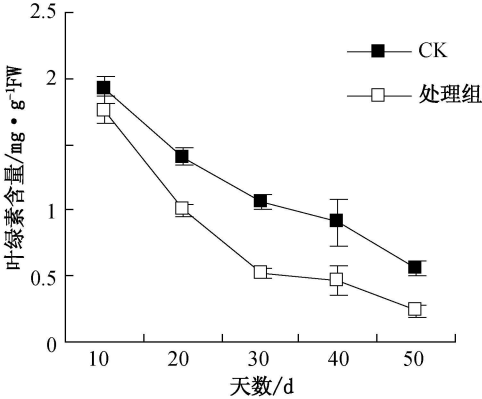


图 1 干旱对银杏衰老期叶片叶绿素含量的影响

2.2 干旱对银杏衰老期叶片电导率和 MDA 含量影响

干旱胁迫对植株伤害的关键部位是细胞质膜系统, 其重要标志为细胞内溶质大量外渗。MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一, MDA 常被作为判断膜脂过氧化程度的一种重要指标。由图 2~3 可知 对照组电导率和 MDA 含量均缓慢上升; 干旱处理 20 d 后, 处理组电导率和 MDA 平均高于对照 25.09%和 69.45%, 差异显著( $P<0.05$ )。经相关性分析, 处理组 MDA 含量与电导率呈显著正相关( $r=0.914$ ), 与叶绿素含量呈显著负相关( $r=-0.993$ ), 说明干旱条件下, 银杏衰老期叶片膜脂过氧化程度加剧, MDA 大量积累, 造成细胞膜系统的氧化伤害, 细胞内物质大量外渗 电导率显著升高; MDA 含量的增加可能是导致叶绿素含量下降的原因之一。

2.3 干旱对银杏衰老期叶片保护酶活性的影响

SOD 和 CAT 是生物体内抗氧化系统中的重要酶

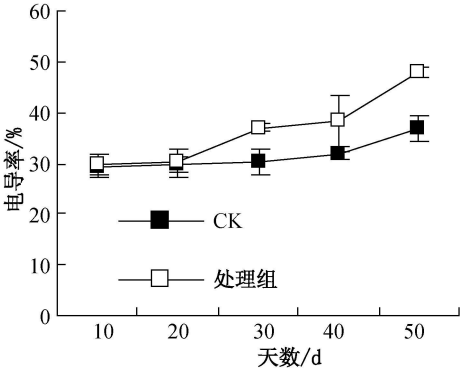


图 2 干旱对银杏衰老期叶片电导率的影响

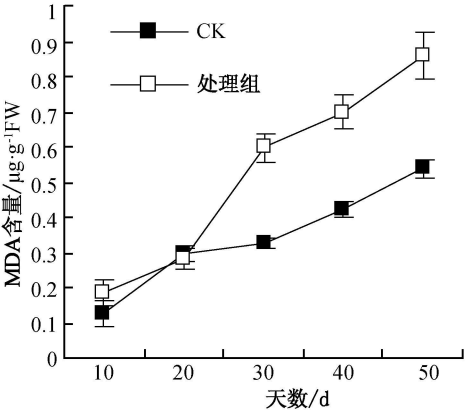


图 3 干旱对银杏衰老期叶片 MDA 含量的影响

类, 对植物体内活性氧的清除起到积极的促进作用。由图 4~5 可知, 对照组 SOD 和 CAT 活力均呈先上升后下降的趋势。处理组 SOD 和 CAT 活力分别于干旱 20 d 和 30 d 出现高峰, 分别高于对照 30.02%和 59.23%, 差异显著( $P<0.05$ )。随着干旱的加剧, 处理组 SOD 和 CAT 活力于干旱处理 40 d 后下降, 分别低于对照 29.19%和 59.93%。说明干旱条件下, 银杏衰老期叶片通过增大 SOD 和 CAT 活力清除过剩的自由基和活性氧, 从而减轻其受伤害程度, 随着干旱的加剧, 氧自由基的积累对酶蛋白造成了伤害, 酶活力下降。

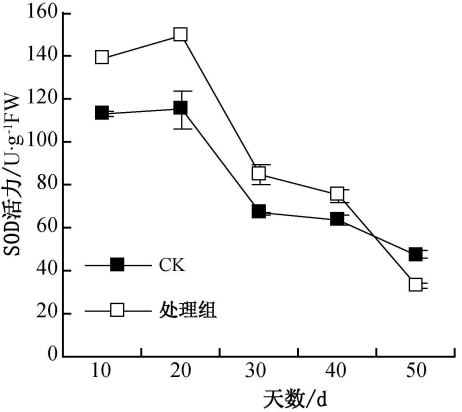


图 4 干旱对银杏衰老期叶片 SOD 活力的影响

2.4 干旱对银杏衰老叶片脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响

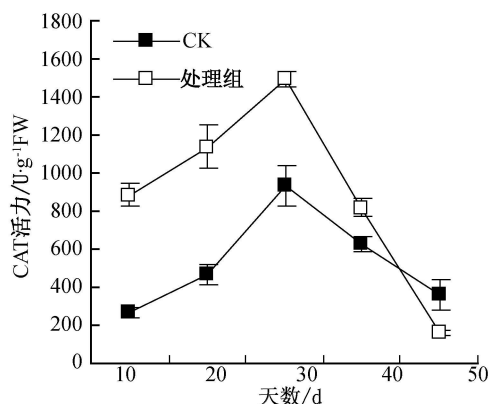


图5 干旱对银杏衰老期叶片CAT活力的影响

脯氨酸和可溶性蛋白是植物的渗透物质,植物可以在渗透胁迫下会主动积累一些渗透物质,来维持渗透平衡。由图6~7可知,脯氨酸在植物细胞中主要起渗透调节作用,脯氨酸含量的增加,可以增强细胞的渗透调节能力。对照组脯氨酸含量缓慢上升,干旱胁迫20 d后,处理组脯氨酸含量平均高于对照3.75倍,差异显著( $P<0.05$ )。陈忠等<sup>[6]</sup>研究表明,可溶性蛋白质与调节植物细胞的渗透势有关。对照组蛋白质含量逐渐下降。干旱处理前20 d,处理组蛋白质含量平均高于对照32.86%,随着干旱胁迫的加剧,处理组蛋白质含量平均低于对照29.77%,差异显著( $P<0.05$ )。说明干旱处理前20 d,银杏衰老期叶片通过提高可溶性蛋白的细胞膨压,随着干旱的加剧,脯氨酸含量迅速上升,作为主要的渗透调节物质保持正常膨压。

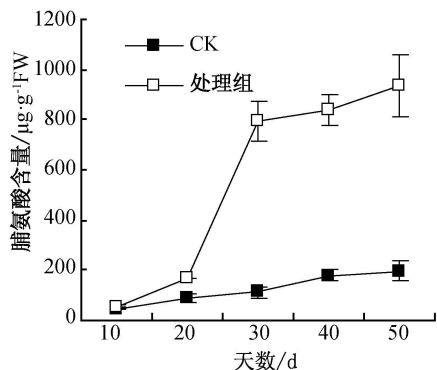


图6 干旱对银杏衰老期叶片脯氨酸含量的影响

### 3 讨论与结论

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,它的改变影响着植物光合作用的强弱<sup>[17]</sup>。有研究表明,干旱导致叶绿素降解,甚至叶绿体结构破坏,导致叶绿素含量下降<sup>[18]</sup>。叶绿素含量和衰老之间存在明显的负相关<sup>[19]</sup>。衰老程度越严重,叶绿素含量越低。该研究中,干旱条件下,银杏衰老期叶片叶绿素的含量显著降低,从而导致银杏叶片光合作用的下降,叶片正常生理代谢受到影响,加速了叶片的衰老。

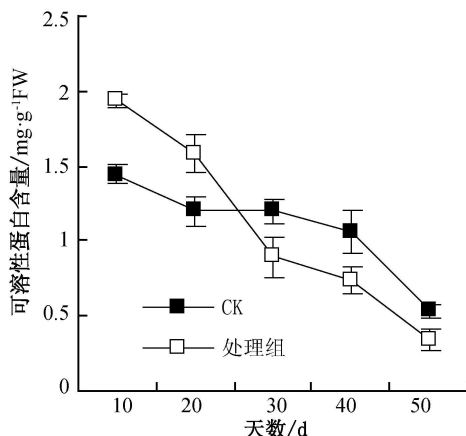


图7 干旱对银杏衰老期叶片可溶性蛋白的影响

正常情况下,植物体细胞内自由基的产生和清除处于动态平衡状态。但是当植物处于逆境条件下(如干旱、盐碱、高温、霜冻、缺素等)及衰老时,根据生物自由基伤害学说,植物细胞内活性氧自由基的产生和清除代谢的平衡受到破坏,使活性氧自由基的产生占据主导地位,从而导致自由基含量过多积累且超过阈值,进而引发或加剧了细胞的膜脂过氧化,给植物体造成伤害<sup>[20]</sup>。Mccord等<sup>[21]</sup>认为衰老过程为活性氧代谢失调累积的过程。因此,由氧自由基积累所导致的膜脂过氧化的产物、MDA的含量和与其清除能力有关的抗氧化酶(SOD、CAT等)的活性,认为是叶片衰老的重要生理指标<sup>[22]</sup>。该研究中,银杏抗氧化酶(SOD、CAT)活力呈先上升后下降的趋势。干旱条件下,2种活性氧清除酶之间活性变化的不平衡,使得活性氧的产生与清除不平衡,氧自由基在叶片中大量积累,膜脂脂肪酸中不饱和键被氧化,膜脂过氧化加剧,过氧化物MDA含量上升<sup>[23]</sup>。经相关性比较,处理组MDA含量与SOD呈显著负相关( $r=-0.973$ )与CAT活力呈微弱的负相关( $r=-0.486$ ),推测处理组MDA含量的上升与抗氧化酶活力的降低有关。

在干旱条件下,植物为了减缓由胁迫造成的生理代谢不平衡,细胞大量积累一些小分子有机化合物,以通过渗透调节来降低水势,维持高的细胞质渗透压,保证细胞的正常生理功能<sup>[24]</sup>。该研究中,处理组脯氨酸含量上升至对照的数倍,经相关性比较,脯氨酸含量与MDA含量与电导率均呈显著正相关( $r=0.885$ ,  $r=0.864$ )。说明干旱条件下,脯氨酸作为主要的渗透调节物质,在维持细胞渗透势方面起了较强的作用。

可溶性蛋白具有较强的亲水胶体性质,可影响细胞的保水力<sup>[25]</sup>。蛋白质含量降低也是衰老过程的另一个显著标志。该研究中,干旱处理的前20 d,可溶性蛋白含量较对照上升,推测此时叶片通过积累可溶性蛋白来抵御干旱对叶片细胞的伤害,维持叶片细胞内正常的生理代谢。随着干旱的加剧,处理组可溶性蛋白含量较对

照下降,经相关性分析,MDA 含量与蛋白质含量呈显著的负相关( $r=-0.996$ ),推测由于细胞内 MDA 含量迅速上升,抑制了可溶性蛋白的合成,致使其含量下降,这与 Dhindsa<sup>[26]</sup>等得出的结论一致。

综上所述,银杏衰老期叶片在干旱条件下,通过提高抗氧化酶(SOD 和 CAT)的活力和积累大量的渗透物质(如脯氨酸)以缓解干旱对其细胞的伤害。随着干旱的加剧,叶片内产生了大量的氧自由基,降低了抗氧化酶的活力,致使氧自由基的产生和清除失去平衡,氧自由基大量积累,导致细胞膜脂过氧化程度加剧,MDA 大量积累,细胞膜系统受到了破坏,叶绿素和蛋白质的加速降解,加快了叶片的衰老。

参考文献

[1] 杨国平,凯旋.银杏的用途及效益[J].中国林业,1997(10):25.  
[2] 郭俊荣,杨培华,谢斌,等.银杏光合与蒸腾特性的研究[J].西北植物学报,1997,7(4):505-510.  
[3] Matile P, Duggelin T, Schellenberg M, et al. How and why is chlorophyll broken down in senescent leaves[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 1989, 27:595-604.  
[4] Wittenbach V A. Induced senescence of intact wheat seedlings and its reversibility[J]. Plant Physiol. 1977, 59:1039.  
[5] 陈少裕,刘杰.干旱胁迫对甘蔗叶片线粒体膜流动性及其膜脂过氧化的关系[J].西北农业大学学报,1991,19(1):79-83.  
[6] 张宾,冯佰利,韩媛芬,等.干旱条件下冷型小麦叶片衰老特性研究[J].干旱地区农业研究,2003,21(3):70-73.  
[7] 刘宇锋,高国庆,李道远.干旱胁迫下不同水稻品种相关生理生化特性比较[J].广西农业科学,2008,39(4):456-461.  
[8] 刘瑞侠,李艳辉,陈邵宁,等.干旱高温协同胁迫对玉米幼苗抗氧化防护系统的影响[J].河南农业大学学报,2008,42(4):363-367.  
[9] Amon D I. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris[J]. Plant Physiol. 1949, 24:1-15.  
[10] 邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:中国农业出版社,2003:94-95.

[11] 赵世杰,李德全.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999:305-306.  
[12] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:167-169.  
[13] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002:120-121.  
[14] 朱广廉.植物体内游离脯氨酸的测定[J].植物生理学通讯,1983,6(1):35-37.  
[15] 姜卫兵,高光林,俞开锦,等.水分胁迫对果树光合作用及同化代谢的影响研究进展[J].果树学报,2002,19(6):416-420.  
[16] 陈忠,苏维埃,汤章城.豌豆热激蛋白 npc60 对酶的高温保护功能及其机理[J].科学通报,1999,44(20):2171-2175.  
[17] 杨艳华,陈国祥,刘少华,等.Hg<sup>2+</sup>胁迫下两优培九和武运粳7号水稻幼苗抗性差异的研究[J].农村生态环境,2002,18(3):34-37.  
[18] Martin C, Thimann K N. The role of protein synthesis in the senescence of leaves[J]. Plant Physiol. 1972, 49: 64-71.  
[19] 杨淑真,高俊凤,李学俊.高等植物叶片的衰老[J].西北植物学报,2001,21(6):1271-1277.  
[20] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens[J]. Plant Physiol. 1994, 105:467-472.  
[21] Mccord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. J. Biol. Chem., 1969, 224:6049-6055.  
[22] 李向东,王晓云,张高英,等.花生叶片衰老过程中某些酶活性的变化[J].植物生理学报,2001,27(4):353-358.  
[23] 李美茹,刘鸿先,王以柔.低温下水稻幼苗叶片细胞膜脂过氧化和膜磷脂酯化反应[J].广西植物,1998,18(2):173-176.  
[24] Bray E A. Molecular responses to water deficit[J]. Plant Physiology, 1993, 103: 1035-1040.  
[25] 张卫华,张方秋,张守玖,等.3种相思幼苗抗旱性研究[J].林业科学研究,2005,18(6):695-700.  
[26] Dhindsa RS. Inhibition of protein synthesis by products of lipid peroxidation[J]. Phytochemistry, 1982, 31: 309-313.

(该文作者还有苑中原,单位同第一作者)

Effect of Drought Stress on Physiologic and Biochemical Characteristic in Senescence Leaves of *Ginkgo biloba* L.

LIU Dan, TANG Jia-hong, YANG Yu-lan, LI Wen, CUI Hong-Yun, CHEN Guo-xiang, YUAN Zhong-yuan  
(College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210046)

**Abstract:** *Ginkgo*(5-year-old pot-cultured seedlings) was selected to measure the changes in some physiological indexes under natural drought stress during natural senescence of its leaves. The results showed that compared with the control, chlorophyll content of treatment group decreased during drought stress, while conductivity and MDA content increased. At the same time, proline content accumulated while soluble protein content first increased and then decreased. Activity of SOD and CAT increased first and then decreased too. The present conclusion was that leaves senescence of *Ginkgo* could be inhibited by enhancing lipid peroxidation under drought stress.

**Key words:** *Ginkgo biloba* L.; drought stress; leaf senescence; physiological indexes