

文章编号: 1001-1498(2010)03-0355-07

# 杨树黄化苗木叶部氧化酶及 MDA 响应特征

刘云鹏<sup>1</sup>, 徐福元<sup>1</sup>, 朱兴俊<sup>2</sup>, 严相进<sup>2</sup>

(1. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 2. 江苏省泗阳县农林局, 江苏 泗阳 223700)

**摘要:** 通过对土壤及杨树黄化苗木不同部位、不同黄化级别的叶片内生化学物质含量的分析, 探索了黄化的成因及其对杨树苗木叶片内多种酶的影响。结果显示, 土壤偏碱和土壤低 Mg 元素含量是苏北杨树苗木黄化的主要因素。而黄化对苗木的叶绿素、SOD、POD、MDA、PPO 等物质的含量均有一定的影响。其中, 叶绿素和 POD 酶的含量随黄化级别的加重而显著下降, 较正常情况下降了 80.4% 和 77.7%。不同部位叶片的生化学物质受黄化病的影响也有所不同, 其中下部叶片的 MDA 含量在 II 级黄化情况下达到最高值(以鲜质量计)  $16.45 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ , V 级黄化情况下, 其含量下降到了  $1.03 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ , 下降了 93.7%。

**关键词:** 杨树; 黄化病; 叶绿素; 生理生化指标

中图分类号: S792.11

文献标识码: A

## Oxidases and MDA Response Characteristics in Poplar Yellow Seedling Leaves

LIU Yun-peng<sup>1</sup>, XU Fu-yuan<sup>1</sup>, ZHU Xing-jun<sup>2</sup>, YAN Xiang-jin<sup>2</sup>

(1. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, Jiangsu, China;

2. Agriculture and Forestry Bureau of Siyang County, Jiangsu Province, Siyang 223700, Jiangsu, China)

**Abstract:** By analyzing the contents of biochemical substances in soil and different parts and indexes of poplar yellow seedling leaves, the cause of yellow and its influence on various enzymes within yellow leaves was studied. The results showed that high pH value and low Mg content in soil were the main factors causing the yellow of poplar seedlings in northern Jiangsu Province. The yellow had certain influences on the contents of chlorophyll, SOD, POD, MDA and PPO in seedlings, among which the contents of chlorophyll and POD dropped significantly with the yellow aggravation, decreased by 80.4% and 77.7% compared with the normal levels. The influence of yellow on the contents of biochemical substances in leaves on different parts of trees was varied. The MDA content in the leaves of lower part reached the maximum ( $16.45 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ ) at the yellow index of II, and decreased to  $1.03 \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1}$  when the yellow index was V, which decreased by 93.7%.

**Key words:** poplar; yellow leaf; chlorophyll; physiological and biochemical index

植物黄化病是植物较为常见的一种病害, 可分为生理性黄化和病理性黄化两种<sup>[1-2]</sup>, 重要区别在于前者是由气候、土壤、温度<sup>[3-4]</sup>等非生物因素引起, 后者是由真菌、病毒、虫害等生物因素引起。目前, 林木黄化病的研究多集中于樟树(*Cinnamomum*

*camphora*(L.) Presl)、银杏(*Ginkgo biloba* L.)、葡萄(*Vitis* spp.)<sup>[5-7]</sup>等景观经济树种的研究, 且多关注微量元素的含量和致病病原的研究。针对杨树黄化的研究未见报道, 而据调查显示: 杨树黄化在江苏的沭阳、泗阳、宿迁、淮阴等杨树(*Populus* spp.)种植区

收稿日期: 2008-07-10

基金项目: 省科研院所社会公益研究与服务专项资金项目“杨树害虫防治生物的筛选与开发利用”(编号: Bm2003526)

作者简介: 刘云鹏(1978—), 男, 安徽宿州人, 博士生, 研究方向为森林病虫害防治。E-mail: lypsq@yahoo.com.cn

发生较为常见,且随着杨树苗木产业的发展,重茬严重、土壤肥力下降等现象致使杨树黄化病的发生趋于加重。杨树的黄化可以造成苗木生长不良、植株矮小、严重时甚至枯死,危害面积正日益扩大,对苏北杨树苗木生产造成了一定的影响。植物的各种生理生化指标直接反映了植物生长状况的好坏<sup>[8-12]</sup>,因此,要了解生理性黄化对杨树生长的影响,首先要摸清黄化病对杨树生长过程中各指标的影响,为进一步探讨黄化病对杨树生长影响的途径提供基础。

通过实地调查,苏北地区杨树苗木黄化基本上属于生理性黄化,主要原因可能是由于重茬严重,土壤肥力及微量元素缺乏造成的黄化。但黄化苗木叶片内部物质变化规律仍不清楚,土壤中何种物质的失衡对那些苗木生化指标有影响以及黄化对苗木的影响途径也未明确。笔者通过对不同黄化级别杨树苗木叶片的多项生理生化指标进行了分析,以探寻杨树黄化病对苗木生长的影响程度和途径,为下一步的防治研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 黄化级别划分方法

杨树黄化分为5个等级,发病程度按以下要求进行判读<sup>[13]</sup>。

表1 杨树黄化病分级标准

病级	代表值	分级标准
0	树木生长健壮,叶深绿色,有光泽。	
1	树木生长良好,叶绿色、微黄,叶色基本正常。	
2	树木生长较差,叶片至少一半以上黄化。	
3	树木生长较差,叶片全部黄色,部分叶边焦枯。	
4	树木生长衰退近枯死,叶片全部黄色,叶边焦枯。	

### 1.2 采样方法

在江苏泗阳选择具有代表性的杨树黄化苗木地3块作为标准地,在标准地内随机选择5行杨树苗木,逐株对标准行苗木黄化情况进行调查,每行调查100株。按照表1的黄化分级标准对取样行苗木进行逐株分级,并采集苗木顶部、中部、下部叶片1~2片,将同一病级、同一部位叶片分别装入保鲜袋中备用。

$$\text{SOD 活性}(\text{U} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{(\text{对照管光吸收值} - \text{样品管光吸收值}) \times \text{提取液总取}(\text{mL})}{\text{对照管光吸收值} \times 50\% \times \text{样品鲜质量}(\text{g}) \times \text{测定用量}(\text{mL})}$$

1.3.3 过氧化物酶(POD)活性测定 酶液制备同SOD活性测定。在试管中依次加入3.8 mL 0.3%愈创木酚,0.1 mL 0.1%过氧化氢,0.1 mL酶液,空白以缓冲液代替酶液,摇匀,以加入酶液开始计时,在

实验室内对采集的样品进行清洗并晾干表面水分。用0.5 cm打孔器取不同部位、不同黄化级别的叶片组织进行相应的生理生化指标分析。

土壤采集:选择具有不同苗木黄化级别的地块,除去表层土壤,取15~20 cm处土壤,保鲜袋封装备用。

### 1.3 生理生化指标测定方法

本研究所有测定方法参照《生物化学实验方法和技术》<sup>[14]</sup>。

1.3.1 叶绿素含量测定 取叶片0.2 g,剪成约0.5 cm宽的叶段,置于20 mL 95%的乙醇中,密封置于26℃恒温箱中避光保存24 h,叶肉组织完全变白后,将浸提液倒入比色杯内,在分光光度计上测定665 nm和645 nm处的吸光度值,根据以下公式计算叶绿素的浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )和含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )。重复3次。

$$Ca = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$$

$$Cb = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$$

$$Ct = Ca + Cb$$

$$\text{叶绿素含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{Ct \times \text{提取液体积}}{\text{样品鲜质量}(\text{g})}$$

注:Ca为叶绿素a浓度;Cb为叶绿素b浓度;Ct为叶绿素浓度;A为吸光度。

1.3.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 称取叶片0.5 g于预冷的研钵中,加2 mL 0.05 mol·L<sup>-1</sup> pH值=7.0磷酸缓冲液,冰浴研磨成浆,加缓冲液使终体积为5 mL。将提取液于4 000 r·min<sup>-1</sup>冷冻离心10 min。上清液即为待测酶液。重复3次。

4 mL反应体系中含磷酸缓冲液(pH值7.8)3.1 mL,甲硫氨酸20 mg·mL<sup>-1</sup>,氮蓝四唑(NBT)1 mg·mL<sup>-1</sup>0.2 mL,EDTA 1 mg·mL<sup>-1</sup>0.2 mL,核黄素0.1 mg·mL<sup>-1</sup>0.2 mL,最后是0.1 mL的酶液。混匀后将一支对照管(不加酶液,磷酸缓冲液3.2 mL)置黑暗处,一支对照管和其他试管置于4 000 lx的日光灯下进行光化学反应20 min,然后用黑暗终止反应,立即在560 nm下以置于黑暗处的对照管为空白进行比色,SOD的活性单位以抑制NBT光化还原的50%为一个酶活性单位(U)表示。按以下公式计算SOD活性:

470 nm波长下测定光吸收值,每隔1 min读数1次。以1 min内A470变化0.01的酶量为1个酶活性单位(U)。按以下公式计算POD活性:

$$\text{POD 活性} (\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = \frac{\text{提取液总取液} (\text{mL}) \times \text{A470}}{\text{反应应时} \times \text{测定用量} (\text{mL}) \times \text{样品鲜质量} (\text{g}) \times 0.01}$$

A470: 反应时间内吸光值的变化

1.3.4 丙二醛(MDA)含量的测定 酶液制备同SOD活性测定。5 mL反应体系中含1 mL 0.5% 硫代巴比妥酸(TBA), 3 mL 5% 三氯乙酸(TCA), 1 mL

酶液。混匀后将试管置于100℃水浴中加热20 min, 冷却后以3 500 r·min<sup>-1</sup>离心10 min, 取上清液, 于532 nm和600 nm处测吸光值。按以下公式计算MDA含量。

$$\text{MDA 含量} (\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{(\text{A532} - \text{A600}) / 0.155 \times \text{测定用量} (\text{mL}) \times \text{提取液总取} (\text{mL})}{\text{样品鲜质量} (\text{g})}$$

1.3.5 多酚氧化酶(PPO)活性测定 酶液制备同SOD活性测定。在试管中依次加入3.9 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH值=6.0 磷酸缓冲液, 1 mL 1% 的儿茶酚溶液, 37℃保温10 min, 然后加0.1 mL酶液, 空白以缓冲液代替酶液, 摇匀, 以加入酶液开始计时, 在

525 nm波长下测定光吸收值, 每隔1 min读数1次。以每分钟内每克鲜质量吸光值变化0.01的酶量为1个酶活性单位(U)表示其活性变化。按以下公式计算PPD活性。

$$\text{PPD 活性} (\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = \frac{\text{提取液总取液} (\text{mL}) \times \text{A525}}{\text{反应应时} \times \text{测定用量} (\text{mL}) \times \text{样品鲜质量} (\text{g}) \times 0.01}$$

A525: 反应时间内吸光值的变化

## 1.4 数据处理

本文所有数据均采用Excel和DPS数据处理系统进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤中微量元素及营养物质与杨树叶片黄化级别之间的关系

通过调查发现, 苏北杨树苗木黄化均属于生理性黄化, 可能是由于土壤元素的失衡和营养物质缺乏引起的。作者对不同黄化级别苗木根部的土壤进

行了分析<sup>[15-17]</sup>, 结果如表2。通过对土壤养分、微量元素与发病级别(代表值如表1)之间的相关性分析显示, Mg元素的含量与发病级别呈显著负相关, 即随着土壤中的Mg元素逐步减少, 苗木黄化级别逐渐趋于严重。Mg元素与苗木高度和地径呈正相关, 即随着土壤中Mg元素的逐步减少, 苗高和地径均逐渐减小, 这可能是由于Mg是叶绿素发育和成色的重要元素, Mg元素的缺乏导致植物叶绿素合成和发育受阻, 从而形成黄化。

表2 土壤微量元素及营养物质含量测定

黄化级别	分析项目(有效态)										
	pH值	有机质/ (g·kg <sup>-1</sup> )	全N/ (g·kg <sup>-1</sup> )	全P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> / (g·kg <sup>-1</sup> )	全K <sub>2</sub> O/ (g·kg <sup>-1</sup> )	Cu/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Zn/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Fe/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Mn/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Mg/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	B/ (mg·kg <sup>-1</sup> )
	7.43	13.1	1.23	1.68	18.8	1.77	0.58	14.62	6.66	108.1	0.37
	8.21	12.2	0.96	1.40	18.3	1.53	0.47	12.78	9.72	97.3	0.35
	8.50	12.8	0.96	1.85	15.9	3.12	0.73	17.47	7.02	71.5	0.34
	8.16	12.0	0.96	1.89	15.6	1.10	0.70	8.02	6.46	55.9	0.30
	8.13	13.0	1.12	2.00	24.9	1.67	1.76	14.56	7.28	53.7	0.39
(相关系数)	0.540 0	-0.130 0	-0.280 0	0.760 0	0.400 0	-0.130 0	0.790 0	-0.220 0	-0.240 0	-0.97**	-0.050 0

注:\* P<0.05, \*\* P<0.01

### 2.2 杨树黄化苗木叶部氧化酶及MDA响应特征

2.2.1 不同黄化级别对叶绿素含量的影响 叶绿素是植物光合作用中捕获光能的主要成分, 直接影响这植物光合作用的进行<sup>[18-19]</sup>, 因此, 其含量是植物生长状况的一个重要的指标。黄化病最为直观的症状表现就是叶片失绿、植株生长不良。通过对不同发病级别的黄化苗木叶片的叶绿素含量测定、分析表明(图1), 上、中部叶片叶绿素含量随着发病程

度的加重, 叶绿素含量逐步降低, 自正常(I级)时的1.99、2.17 mg·g<sup>-1</sup>下降至Ⅱ级黄化时的0.22、0.17 mg·g<sup>-1</sup>, 分别下降了88.9%和92.2%。这说明杨树黄化病的发生直接影响叶绿素的合成, 进而影响了发生正常光合作用, 导致了杨树苗木的生长势减弱, 最终焦枯、死亡。但下部叶片叶绿素含量变化受黄化级别的影响不显著, 可能是由于下部叶片接近衰亡, 叶绿素解体所致。对各发病级别叶绿素含量

的比较分析(图1),各发病程度下叶绿素含量均较正常值有显著下降,、级时下降达到极显著水平( $F=2\ 252.706, p=0.000\ 0$ )。

叶绿素含量的变化以中、上部叶片较为显著,因此,以上部叶片叶绿素含量与发病级别之间的关系

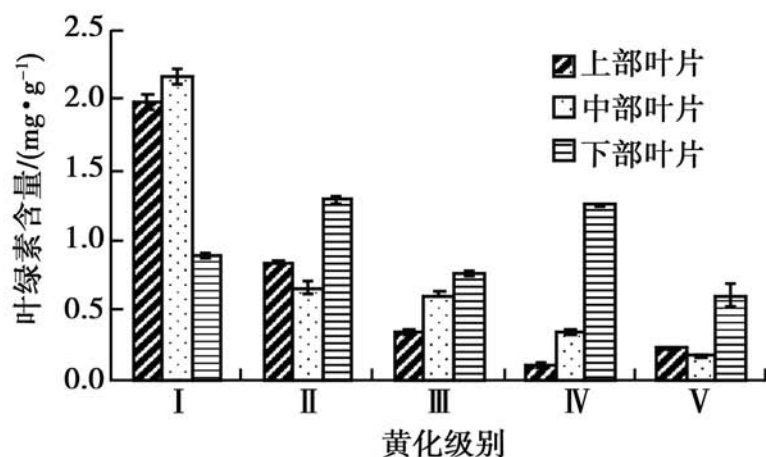


图1 不同黄化级别叶片内叶绿素含量

同时,叶片失绿必然有一定的发生程序,笔者对黄化杨树苗木上、中、下叶片叶绿素含量分析表明,正常叶片的叶绿素含量以中部最高,而黄化植株的叶绿素含量却以下部为高,且上部新叶下降速度最快,这也从一个侧面反映了黄化受叶绿素含量的影响是由于其合成途径受限所致。

**2.2.2 不同黄化级别对超氧化物歧化酶(SOD)含量的影响** SOD的作用是清除自由基,是多余自由基的清除剂,是关系着植株抗性强弱的重要指标。对不同黄化级别叶片的SOD酶含量的测定、分析显示(图3):正常杨树苗木叶片内SOD酶含量以上部为最高,中下部显著低于上部。而黄化苗木叶片内SOD酶含量却呈现出上部降低,中下部升高的趋势,黄化级别较高时中部叶片SOD酶含量显著高于上部。但就不同部位、不同黄化级别叶片SOD酶含量的多重比较显示,上部叶片的平均SOD酶含量最高,中部次之,下部最低,分别为170.2、162.44、158.59  $U \cdot g^{-1}$ ,且差异显著。以不同黄化级别叶片SOD酶含量统计,SOD酶的含量也随着黄化级别的

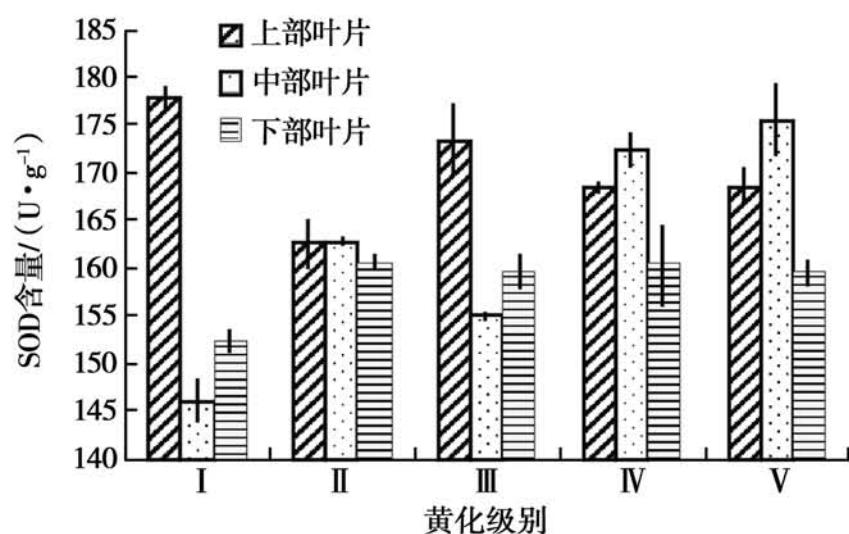


图3 黄化级别对不同部位叶片内SOD含量的影响

作模拟曲线(图2),探讨二者之间的联系。得到指数曲线拟合方程为:

$$Y = 4.614\ 6 \exp(-0.845\ 031X), R^2 = 0.988\ 6, p = 0.000\ 52.$$

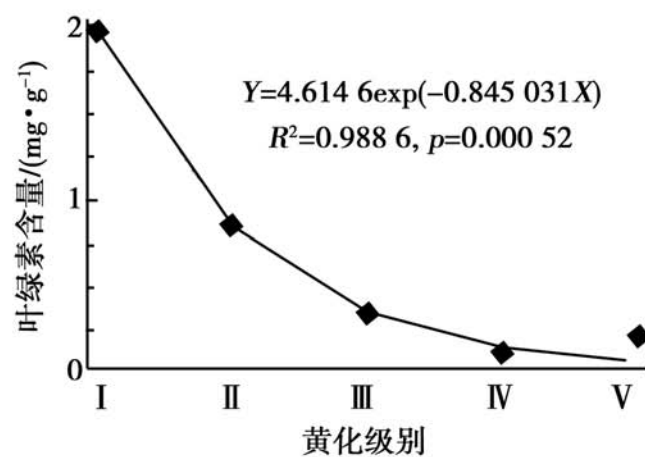


图2 叶绿素含量随叶片黄化级别模拟曲线

增高而增高,但差异不显著,表明SOD酶含量受黄化级别的影响并不显著,而受部位影响更为明显。

**2.2.3 不同黄化级别对过氧化物歧化酶(POD)含量的影响** POD酶与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等都有密切关系,因此,其含量的多少直接影响着植株的生长状况。通过对不同黄化级别黄化苗木叶片POD酶含量的测定、分析表明(图4),叶片中POD酶含量以上部最高,下部次之,中部最低,且随着黄化级别的加重,其含量也逐步降低。上部叶片POD含量从正常级别下的6 077.5  $U \cdot g^{-1} \cdot \min^{-1}$ 下降到级情况下的1 530.8  $U \cdot g^{-1} \cdot \min^{-1}$ ,下降了74.8%。而中部、下部叶片级情况下的POD酶含量较正常级别的含量也分别下降了77.7%和71.1%,下降水平极显著。从这种变化趋势可以看出,杨树苗木的黄化严重影响叶片POD酶的含量,且影响较为迅速、显著,黄化级别达到、级时,POD酶含量基本就迅速下降到了最低点,随着黄化级别的加重,其含量的下降幅度也不再显著。因此,叶片POD酶的含量也可以作为苗木有无黄化病发生的一个生化指标。

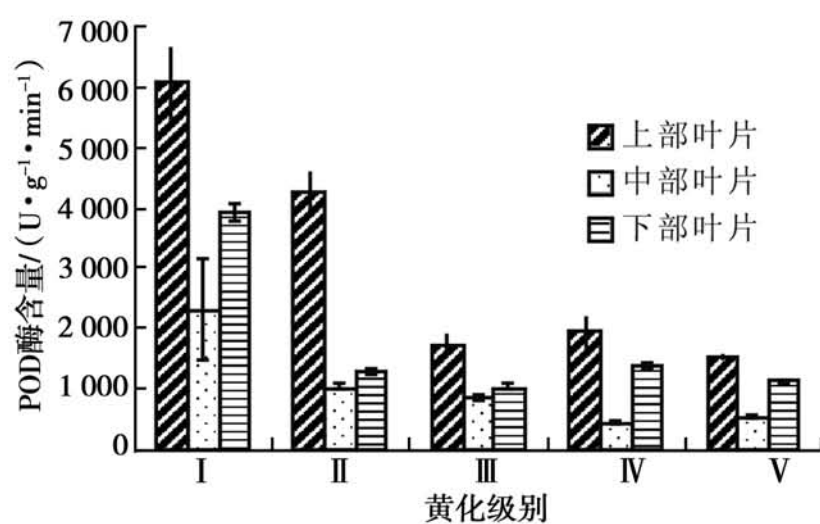


图4 黄化级别对不同部位叶片内POD酶含量的影响

不同部位的 POD 酶含量差异可能主要是由于生长部位不同, POD 酶的需求量也不同, 上部生长迅速, 需求与合成量也就相对较高。黄化对不同部位的影响基本一致, I 级情况下的 POD 含量较正常级别的含量下降均在 70% ~ 80% 之间, 差异不显著。这也从另一个侧面反映了 POD 酶作为黄化指标的取样优势。

#### 2.2.4 不同黄化级别对丙二醛(MDA)含量的影响

植物遭受伤害, 往往发生膜脂过氧化作用, 丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终分解产物, 其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。通过对杨树苗木不同部位、不同黄化级别的叶片进行 MDA 含量分析显示(图 5), 下部、中部叶片 MDA 含量在黄化级别较轻时具有显著上升趋势, I 级黄化时达到最高值, 分

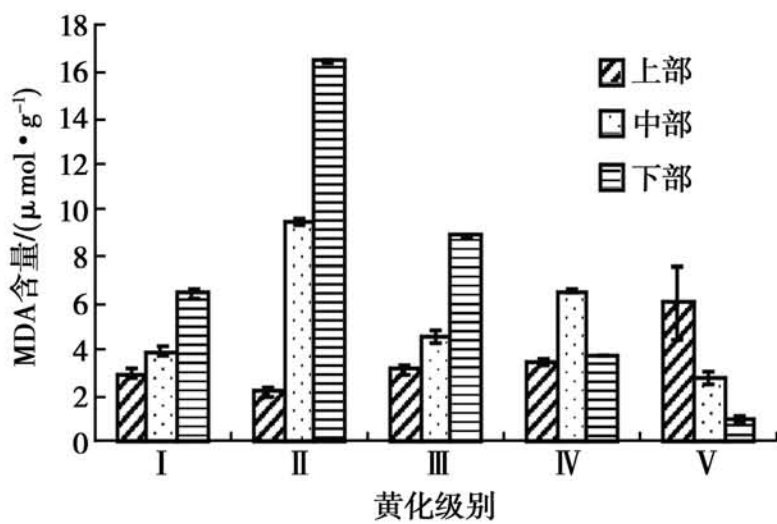


图 5 黄化级别对不同部位叶片内 MDA 酶含量的影响

统计显示, 上部叶片的 MDA 含量变化并不显著, 只要在严重的 V 级黄化情况下, 其含量才有所增加。表明: 黄化对上部叶片的 MDA 含量影响较小, 这主要是由于上部叶片处于生长旺盛期, 光合作用强烈, 细胞活性强, 膜脂过氧化情况较弱, 因而所需的 MDA 量也就较少。即使叶片发生黄化, 其细胞本身的快速生化反应也足以抵御细胞膜脂的过氧化伤害, 但随着黄化级别的增加, 光合作用逐步减弱, 细胞生化反应能量不足时, 细胞膜脂过氧化伤害作用凸显, 则造成细胞增加了 MDA 的合成量以减少伤害。因此, 严重黄化时 MDA 含量增加明显, 从 I 级的  $2.1 \sim 3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  上升到 V 级的  $6.04 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ , 较 I 级上升了 42.9% ~ 64.3%。

#### 2.2.5 不同黄化级别对多酚氧化酶(PPO)含量的影响

多酚氧化酶 PPO 是植物组织内广泛存在的一种含铜氧化酶, 植物受到机械损伤和病菌感染后, PPO 催化酚与  $\text{O}_2$  氧化形成醌, 是组织形成褐变, 以便损伤恢复, 防止或减少感染, 提高抗病能力。醌类

别为  $16.45 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $9.51 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。其中下部叶片尤甚, 这与下部叶片处于衰退期, 其正常情况下 MDA 含量就相对偏高, 以延缓叶片衰退所造成的伤害, 同时黄化伤害的协同作用, 使得其含量增加更为显著。但是, 随着黄化级别的进一步增加, MDA 含量却逐步下降, 表明黄化初期黄化伤害刺激了叶片细胞中丙二醛(MDA)的合成, 以此来消除膜脂过氧化的损害。但是随着黄化级别的增加, 叶片细胞内生理代谢不足, 特别是下部叶片, 生化反应难以继续, 则 MDA 合成量也随之锐减, 且下部叶片光合作用衰退, 减幅更加明显。I 级黄化情况下下部、中部叶片的 MDA 含量分别为  $1.03 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $2.77 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ , 较最高值时分别下降了 93.7%、70.9%。

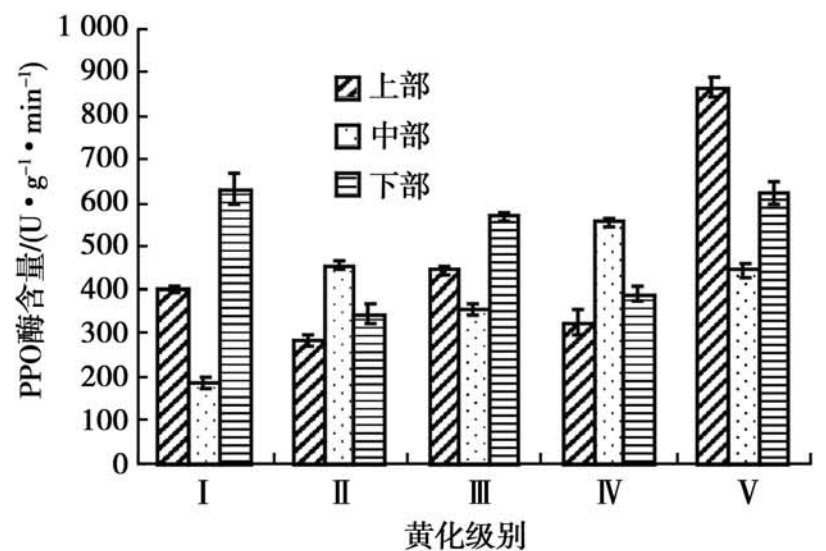


图 6 黄化级别对不同部位叶片内 PPO 酶含量的影响

物质对微生物有毒害作用, 所以伤口醌类物质出现是植物防止伤口感染的愈伤反应, 因而受伤组织一般这种酶的活性就会提高。而杨树苗木发生黄化时其叶片 PPO 含量并没有随黄化级别的增加而出现显著的升高或下降, 呈现不规则波动, 只在 I 级黄化情况下上部、下部叶片 PPO 含量才有所增加(图 6)。这一现象表明, 黄化的程度并不会直接影响 PPO 酶的含量, 只是当叶片出现枯死或极度营养不足, 细胞萎缩时才会间接引起 PPO 含量的增加以形成组织褐变, 防止或减少外界病原物的再侵染。

#### 2.2.6 各指标与杨树黄化级别之间的相关性分析

从上面对黄化杨树苗木不同部位、不同黄化级别叶片的多个生理生化指标进行了分析, 可以看出杨树黄化级别直接或间接与多种生化物质含量程度相关, 不同部位含量不同。为了进一步探求各生化指标随黄化级别的变化情况, 笔者以黄化级别的代表值 0 ~ 4 作为源数据列, 以不同部位叶片的各种生化指标的含量作为对比列, 进行了相关性分析。分析表明(表

3), 上部叶片各指标中叶绿素、POD 酶、MDA 酶含量与黄化级别相关性较高, 其中与叶绿素、POD 酶的相关性达到显著水平。中部叶片黄化级别与叶绿素、SOD 酶、POD 酶的相关性达到显著水平。下部叶片黄化级别与各指标的相关性均不显著, 这是由于下部叶片处于生理衰退期, 光合作用、物质合成的能力均显著下降, 对外界的刺激反应也相对减弱, 因此, 黄化对其造成的影响也相对较小, 但黄化级别与 SOD 酶、POD 酶、MDA 酶相关系数也分别达到了 0.65、-0.71 和 -0.63。针对上、中、下三个部位的平均含量的分析表明, 黄化级别与叶绿素、SOD 酶、POD 酶、PPO 酶均表现出较高的相关性。这也说明, 杨树苗木的黄化伴随着叶片内多种生化指标的变化。

综合不同部位的相关性分析, 叶绿素、POD 酶的含量与黄化级别呈明显的负相关, 即随着黄化程度的增加其含量逐步减少, 表明苗木黄化影响了这两种物质的合成功能, 进而影响了正常的叶片生理功能。而 SOD 酶和 PPO 酶与黄化级别基本呈正相关, 表明黄化的发生对这两种物质的合成产生了刺激作用, 也是植株提高自然抵御病变的生化反映表现。

表 3 不同部位叶片各生化指标与黄化级别之间相关系数

项目	叶绿素	SOD	POD	PPO	MDA
上部黄化级别	-0.87*	-0.36	-0.90*	0.66	0.80
中部黄化级别	-0.86*	0.89*	-0.87*	0.70	-0.32
下部黄化级别	-0.33	0.65	-0.71	0.04	-0.63
(平均)	-0.92*	0.97**	-0.87*	0.78	-0.48

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

2.2.7 土壤中微量元素及营养物质与杨树叶片内部氧化酶及 MDA 之间的关系 通过对土壤元素与杨树叶片内氧化酶及 MDA 之间的相关性进行分析显示(表 4): Mg 元素含量与叶片内的叶绿素、SOD 酶、POD 酶含量具有典型相关性, pH 值与叶绿素、POD 酶含量具有典型相关性, 而 Zn 元素与 PPO 酶含量、Mn 元素与 MDA 酶含量也具有典型相关性。这其中以 Mg 与 pH 值对这些生化指标的影响最为显著和广泛, 因此, 它们应成为杨树苗木黄化地块土壤改良的重点目标。但不同黄化级别地块的土壤营养物质对杨树苗木黄化级别和各种生化指标的影响并不显著, 只有全  $P_2O_5$  含量与 MDA 酶的含量具有相关性。综合微量元素分析结果表明, 苏北地区杨树苗木黄化的发生并不是由于营养物质流失造成的, 其黄化可能是由于微量元素的失衡及土壤偏碱化直接或间接影响造成的结果。

表 4 土壤微量元素及营养物质含量与杨树叶片内各氧化酶及 MDA 之间的相关性分析

项目	叶绿素	SOD	POD	PPO	MDA
有机质	0.28	-0.32	0.35	0.50	-0.52
全 N	0.59	-0.35	0.68	0.29	-0.53
全 $P_2O_5$	-0.57	0.66	-0.53	0.77	-0.90*
全 $K_2O$	-0.20	0.33	-0.06	0.79	-0.36
Cu	-0.08	-0.32	-0.14	0.07	0
Zn	-0.60	0.68	-0.49	0.99**	-0.63
Fe	0.11	-0.43	0.12	0.25	-0.03
Mn	0.01	-0.17	0	-0.30	0.88*
Mg	0.91*	-0.95**	0.89*	-0.67	0.51
pH 值	-0.83*	0.51	-0.88*	0.16	0.28
B	0.17	-0.18	0.28	0.55	-0.20

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3 结论

随着江苏北部地区杨树产业的快速发展, 由于单一树种和多次重茬育苗等因素的影响, 杨树的苗木黄化目前正逐渐成为苏北杨树产业区的一个隐患, 发生面积逐年扩大。杨树苗木的黄化原因多样, 但其主要是通过影响叶片细胞内的生理生化反映和物质合成, 还影响植株的正常生长。本文对杨树苗木的不同黄化级别、不同部位的叶片的多种生理指标进行了分析, 结果表明:

(1) 黄化地块土壤分析结果表明, 苏北地区杨树苗木黄化可能与土壤偏碱化、土壤微量元素如可利用 Mg 元素含量降低相关。土壤碱化能限定许多具有重要生理活性需要的微量元素的被植物吸收。Mg 是叶绿素发育和成色的重要元素, Mg 元素的缺乏导致植物叶绿素合成和发育受阻, 从而形成黄化。

(2) 杨树苗木的黄化级别直接影响着其叶片细胞内多种生化物质的含量, 其中叶绿素和 POD 酶的含量随黄化级别的增加呈显著下降趋势, V 级情况下叶绿素含量较正常值下降了 80.4%, 而 POD 酶含量较正常值下降了 70% 以上。MDA 酶在黄化发生的初期, 其含量有所提高, 但随着黄化级别的逐步加重, 其含量也随之下降。这些生化功能物质的变化说明了黄化影响了植株的正常生长代谢, 特别是叶绿素含量的大幅下降造成叶片失绿, 光合作用受到严重影响, 致使植株生长不良。

(3) 叶绿素含量随黄化级别的加重而呈规律性下降, 特别是上部叶片的变化更显著。因此, 通过上部叶片叶绿素含量与黄化级别之间的关系作模拟曲线, 探讨二者之间的联系。得到指数曲线拟合方程为:  $Y = 4.6146 \exp(-0.845031X)$ ,  $R^2 = 0.9886$ ,



$p=0.00052$ 。这为黄化病的诊断分级提供了一定的依据和定量指标。

(4) 植株不同部位受黄化病的影响也是不同的,总的来说,上部和中部叶片受黄化级别的影响较下部叶片更加严重,这与叶片所处的不同生理状态具有一定的关系,上、中部叶片生长旺盛,生化反应较强烈,很多生化物质的含量随黄化级别变化的幅度也较大。而下部叶片由于处于生理衰退期,则生化反应较弱,其生物物质的变化也就相对稳定。但某些与植株抗损伤能力有关的酶,如MDA酶,却随着黄化级别的加重而增加,以恢复损伤。

#### 参考文献:

- [1] 刘效义,刘榆,张毅.葡萄黄化病的发病机理及防治方法[J].中外葡萄与葡萄酒,2006(5):27-28
- [2] 王均,孙洁,姜华.银杏黄化病的病因分析[J].辽宁农业科学,2007(3):82-83
- [3] 尤海洋,罗新义.干旱胁迫对披碱草属植物保护酶活性的影响[J].当代畜牧,2007(8):40-42
- [4] Wang X Y, Shen L Q, Yuan H N. Impact of heat-shock treatment on yellowing of pak choy leaves[J]. 中国农业科学,英文版,2004,3(6):435-441
- [5] 黄树君,刘明芳.桂圆黄化病的成因及防治研究[J].中国植保导刊,2007,27(8):26-27
- [6] 姚春潮,龙周侠,刘旭峰.猕猴桃黄化病危害性研究[J].西北林学院学报,2005,20(1):148-149
- [7] 王翠玲,杨晓明,曹孜义.缺铁黄化对葡萄生长及果实品质的影响[J].果树学报,2007,24(1):26-29
- [8] 柯德森,孙谷畴.超氧阴离子自由基对绿豆黄化幼苗ACC合酶的影响[J].热带亚热带植物学报,2004,12(6):495-500
- [9] 李荣富,梁莉,胡晓红,等.低温对杏花丙二醛含量及过氧化物酶与超氧化物歧化酶活性的影响[J].内蒙古农业科技,2005,6:29-30
- [10] 李英慧,韩振海,许雪峰.苹果铁高效相关性状与黄化指数相关性的研究[J].2004,园艺学报,31(3):350-352
- [11] 杨东霞. SO<sub>2</sub> 胁迫对大花蕙兰叶片保护酶活性的影响[J].湖北农业科学,2007,46(4):590-592
- [12] 张富平,张蕊.低温下外源水杨酸对玉米幼苗保护酶活性的影响[J].玉米科学,2007,15(4):83-85
- [13] 吴秀水.樟树黄化病发生原因与防治对策[J].安徽农业科学,2005,33(11):2040-2041
- [14] 陈毓荃.生物化学实验方法和技术[M].北京:科学出版社,2005
- [15] Vacek S, Podrazsky V, Heicman M, et al. Effect of Mg fertilization on yellowing disease of Norway spruce at higher elevations of the Sumava Mts., Czech Republic[J]. Journal of Forest Science, 2006, 52(10):474-481
- [16] Sumner R M W. Factors associated with yellowing within Romney fleeces[C]. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 2002, 62(62):61-64
- [17] Xie Z, Zhuang Y M, Wang R J. Diagnosis of manganese, magnesium and zinc disturbance for sweet orange plants on red soil[J]. South China Fruits, 1993(3):79-82
- [18] Fang Z Y, Bouwkamp J C, Solomos T. Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in nonyellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(320):503-510
- [19] Matile P, Hortensteiner S, Thomas H, et al. Chlorophyll breakdown in senescent leaves [J]. Plant Physiology, 1996, 112:1403-1409