

不同黄化程度樟树叶片的生理生化特性

刘海星^{1,2}, 张德顺^{2,3}, 商侃侃¹, 陈香波², 达良俊¹

(1. 华东师范大学 资源与环境科学学院, 上海 200062; 2. 上海市园林科学研究所, 上海 200232; 3. 同济大学 建筑与城市规划学院, 上海 200092)

摘要: 樟树 *Cinnamomum camphora* 作为城市绿化的优良树种广泛应用于中国南方各省, 但最近几十年来, 长江中下游地区樟树黄化现象越来越严重, 极大地影响了城市景观和城市绿化的生态效益。以上海不同典型地段(植物园、休闲广场、公路)和不同黄化程度的樟树为研究对象, 揭示不同黄化程度樟树叶片的生理生化特性。结果表明, 随着樟树黄化程度的加重, 叶绿素 a 相对含量降幅达 91.2%, 叶绿素 b 降幅达 95.1%, 类胡萝卜素降幅达 82.2%, 叶绿素/类胡萝卜素比值降幅为 58.5%, 超氧化物歧化酶(SOD)活性降低幅度为 46.4%, 过氧化物酶(POD)降幅则为 66.6%。3~7 级黄化叶片有效铁相对含量则为正常樟树的 50%~65%, 7 级黄化叶绿素 a/b 比值显著增加, 增加幅度为 98.7%。类胡萝卜素相对含量的增加使叶片呈黄色, SOD 和 POD 活性可以表征樟树的黄化程度。图 8 表 2 参 20

关键词: 植物学; 樟树; 黄化; 光合色素; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 有效铁

中图分类号: S718.43; Q945.79 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5692(2009)04-0479-06

Chlorophyll differences in chlorotic *Cinnamomum camphora* leaves

LIU Hai-xing^{1,2}, ZHANG De-shun^{2,3}, SHANG Kan-kan¹, CHEN Xiang-bo², DA Liang-jun¹

(1. School of Resources and Environment Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. Shanghai Landscape Gardening Research Institute, Shanghai 200232, China; 3. College of Architecture and Urban Planning, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: In the middle and lower reaches of the Yangtze River region in recent decades, chlorotic *Cinnamomum camphora* has become more and more serious with urban landscape and greening benefits degraded due to physiological disease of this tree species. In this research, physiological and biochemical properties of chlorotic *C. camphora* leaves from trees in typical planted areas of Shanghai (botanical gardens, leisure open spaces, and sides of highways) and chlorophyll variation were studied. Results of chlorophyll (Chl) differences in chlorotic *C. camphora* leaves showed decreases in Chla(91.2%), Chlb(95.1%), carotenoids (82.2%), the ratio of chlorophyll/carotenoid (58.5%), superoxide dismutase(SOD)(46.4%), and peroxidase (POD)(66.6%), compared to the health leaves. Also, the active iron content in yellow leaves was 50%–65% of health leaves, and the chlorophyll a/b ratio of the serious yellow leaves increased 98.7%, compared to the health leaves. The relative increase in carotenoid content could result in chlorotic *C. camphora*, whereas POD and SOD activity could indicate the degree of chlorosis. [Ch, 8 fig. 2 tab. 20 ref.]

Key words: botany; *Cinnamomum camphora*; chlorosis; photosynthetic pigment; superoxide dismutase (SOD); peroxidase(POD); active iron

收稿日期: 2008-09-23; 修回日期: 2008-12-28

基金项目: 上海市科学技术委员会自然科学基金资助项目(05ZR14108);上海市绿化(林业)局重点攻关项目(GZB060502)

作者简介: 刘海星, 从事城市生态学研究。E-mail: xingxing82115@yahoo.com.cn。通信作者: 张德顺, 高级工程师, 博士, 从事园林植物与濒危物种的研究。E-mail: zhangdeshun@yahoo.com

樟树 *Cinnamomum camphora* 枝叶茂密, 冠大荫浓, 是城市绿化的优良树种, 作为庭荫树、行道树、防护林及风景林树种广泛栽培。最近几十年来, 长江中下游地区樟树黄化日益严重, 使得原本浓密的树冠变得黄绿斑驳, 遮光性明显下降, 不能满足绿化遮光和观赏的要求, 降低了城市景观的美学价值。黄化现象普遍存在于植物界中, 有关植物黄化的生理生化特性研究也有诸多报道^[1-5], 但各项指标的变化没有一致的规律性, 不能形成统一评价标准。目前, 有关樟树黄化的研究主要集中在对黄化植株的施肥治理^[6], 对其黄化的生理生化变化机制研究鲜有报道。本实验选取叶绿素、类胡萝卜素、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和有效铁等指标, 通过分析不同黄化程度樟树植株之间的各项指标的变化及其相关性, 探讨了这些指标在黄化过程中所起的作用, 以及作为樟树黄化诊断的可能指标, 以期对樟树的黄化机制和黄化诊断与防治研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 野外取样

于上海植物园、上海共青森林公园、龙华滨江休闲广场和上海沪青平公路等地采样, 分别选取正常和不同黄化程度的樟树(共 25 株), 在树冠中部的东、南、西、北 4 个方向采摘相同部位的成熟叶片, 混合均匀放入自封袋中, 用冰盒带回实验室。叶片用蒸馏水洗净, 均匀剪碎, 放入 -80 ℃ 超低温冰箱中保存待测。

1.2 测定方法

采用体积分数为 95% 乙醇浸提法测定光合色素相对含量^[7], 采用 NBT 光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性^[8], 采用愈创木酚显色法测定过氧化物酶(POD)活性^[9], 采用紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性^[10], 采用原子吸收分光光度法测定有效铁相对含量^[4]。

1.3 数据分析方法

由于采样地点不同, 本研究使用相对值(即以每个样点正常生长的樟树做为对照, 与对照的比值)表示各项生理生化指标。根据叶片所含叶绿素(Chl)相对含量的高低, 将黄化樟树划分为不同等级(表 1)。采用 Excel 和 SPSS 11.5 进行统计分析。

表 1 樟树叶片叶绿素相对含量与黄化程度的关系

黄化程度	叶绿素相对含量	黄化程度	叶绿素相对含量
1	1.00 ~ 0.85	5	0.40 ~ 0.25
2	0.85 ~ 0.70	6	0.25 ~ 0.10
3	0.70 ~ 0.55	7	<0.1
4	0.55 ~ 0.40		

2 结果与分析

2.1 不同黄化程度光合色素相对含量的变化

由图 1 和图 2 可知, 随着樟树叶片失绿黄化程度的加重, 叶绿素 a(Chla)、叶绿素 b(Chlb)和类胡萝卜素(Car)的相对含量均明显降低。7 级黄化的樟树叶片中叶绿素 a 相对含量仅为 1 级黄化的

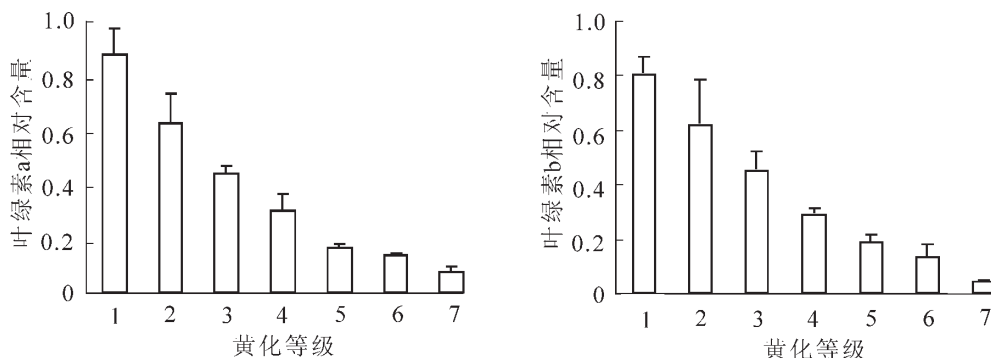


图 1 樟树叶片不同黄化程度叶绿素 a 和叶绿素 b 相对含量的变化

Figure 1 Changes of Chla and Chlb content under different chlorosis degrees

8.7%, 降幅达 91.2%; 叶绿素 b 相对含量也只为 1 级黄化的 4.9%, 降幅达 95.1%; 差异极显著。类胡萝卜素相对含量也随着黄化等级的加重而减少, 叶绿素相对含量降低时, 类胡萝卜素相对含量也随之降低。1 级至 7 级黄化的叶片中, 类胡萝卜素相对含量降低的幅度为 82.2%。

由图 3 可以看出, 叶绿素/类胡萝卜素的相对含量随黄化等级的加重而减小。在轻度黄化(1~3 级)时, 叶绿素/类胡萝卜素的相对比值先是小幅度上升, 然后下降, 但差异不显著。随着黄化等级的加重, 两者比值急剧下降, 1 至 7 级黄化, 两者比值降幅为 58.5%。由图 4 可知, 1~5 级黄化, 叶绿素 a/叶绿素 b 的相对比值变化不显著, 最为严重的 7 级黄化叶绿素 a/叶绿素 b 比值显著增加, 增加幅度为 98.7%。

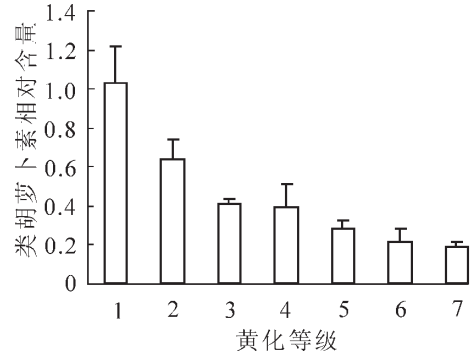


图 2 樟树叶片不同黄化程度类胡萝卜素相对含量的变化

Figure 2 Changes of carotenoid content under different chlorosis degrees

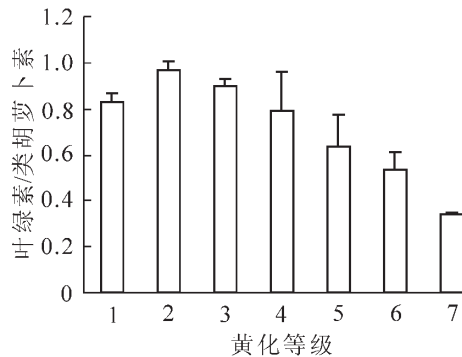


图 3 樟树叶片不同黄化程度叶绿素/类胡萝卜素的变化

Figure 3 Changes of Chl/Car under different chlorosis degrees

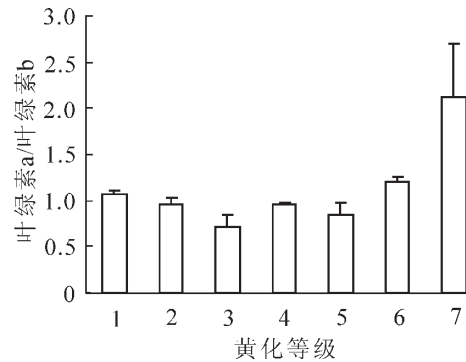


图 4 樟树叶片不同黄化程度叶绿素 a/b 的变化

Figure 4 Changes of Chla/Chlb under different chlorosis degrees

2.2 不同黄化程度叶片抗氧化酶相对活性的变化

本实验研究了樟树叶片不同黄化程度下 SOD, POD 和 CAT 活性的变化, 以期揭示樟树黄化叶片中酶的生理生化过程。由图 5~7 可知, 随着黄化程度的加重, SOD, POD 和 CAT 活性均呈下降趋势。

由图 5 可知, 随着黄化程度的加重, SOD 的相对活性受到严重影响。1 级至 4 级黄化樟树的 SOD 活性急剧下降, 差异显著。4 级至 7 级黄化 SOD 活性略有降低, 但差异不显著。1 级至 7 级黄化,

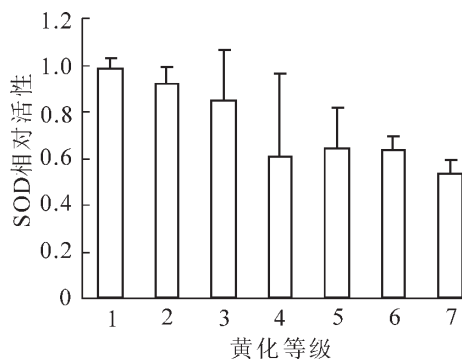


图 5 樟树叶片不同黄化程度 SOD 相对活性的变化

Figure 5 Changes of SOD activity under different chlorosis degrees

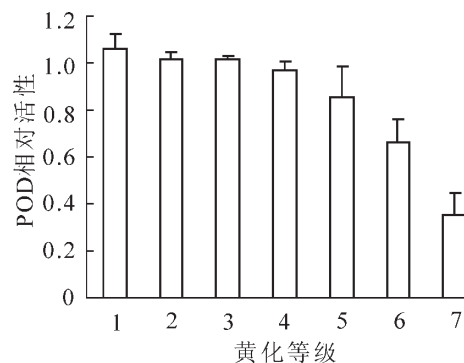


图 6 樟树叶片不同黄化程度 POD 相对活性的变化

Figure 6 Changes of POD activity under different chlorosis degrees

SOD 相对活性降低幅度为 46.4%。由图 6 可以看出, POD 的活性随着黄化等级的加重也逐渐降低, 1 级至 4 级降低幅度较小, 差异不显著, 4 级至 7 级 POD 活性显著降低, 幅度为 66.6%。由图 7 可知, CAT 相对活性随着黄化等级的加重也降低, 但明显分成两部分。轻度黄化(1~3 级)部分, CAT 活性随黄化的加重而降低。3 级至 4 级黄化, CAT 活性又显著升高, 然后又随着黄化的加重而急剧下降。1 级至 7 级黄化, CAT 相对活性降幅为 41.8%。

2.3 不同黄化程度叶片有效铁相对含量的变化

叶片中总铁相对含量与叶片的叶绿素相对含量没有很好的相关性。很多情况下, 植物缺铁失绿叶片中具有较高的总铁含量^[11], 但是叶绿素含量与用低浓度盐酸浸提的活性铁呈现良好的相关性^[12]。由图 8 可以看出, 樟树 1 级黄化叶片有效铁为正常的 81%, 2 级黄化为正常的 108%, 3 至 7 级黄化则为正常的 50%~65%, 樟树黄化与叶片有效铁有一定的相关性, 但是不显著, 可能是当樟树体内的铁元素降低到一定程度时就不能满足其正常的光合作用及其他生理生化活动, 致使叶片叶绿素相对含量越来越低, 叶片泛黄的现象日益严重。

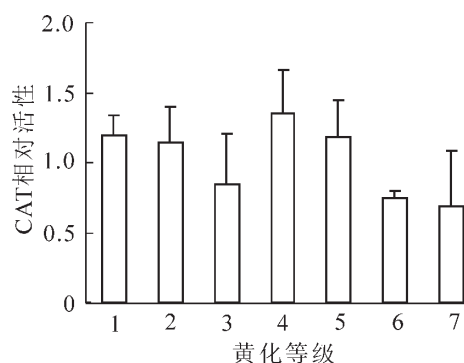


图 7 樟树叶片不同黄化程度 CAT 相对活性的变化

Figure 7 Changes of CAT activity under different chlorosis degrees

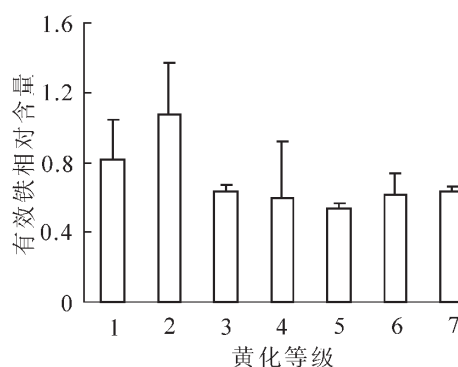


图 8 樟树叶片不同黄化程度有效铁相对含量的变化

Figure 8 Changes of iron content under different chlorosis degrees

2.4 各指标的相关性分析

各项生理生化指标之间的相关性分析结果见表 2。从中可以看出, 叶绿素(Chl)与叶绿素 a (Chla), 叶绿素 b(Chlb), 类胡萝卜素(Car), 叶绿素/类胡萝卜素(Chl/Car)和 POD 均呈极显著正相关关系, 与 SOD 呈显著正相关关系, 而与叶绿素 a/叶绿素 b (Chla/Chlb) 存在一定的负相关关系; 类胡萝卜

表 2 樟树叶片各指标的相关性分析

Table 2 Correlation coefficients of index

指标	Chl	Chla	Chlb	Car	Chla/Chlb	Chl/Car	CAT	POD	SOD	有效铁
Chl	1.000	0.997**	0.968**	0.905**	-0.416	0.733**	0.043	0.707**	0.462*	0.079
Chla		1.000	0.975**	0.902**	-0.366	0.714**	0.039	0.685**	0.481*	-0.060
Chlb			1.000	0.810**	-0.302	0.771**	0.093	0.639**	0.426	0.023
Car				1.000	-0.499*	0.476*	-0.063	0.715**	0.614**	-0.122
Chla/Chlb					1.000	-0.447*	-0.127	-0.724**	-0.255	-0.165
Chl/Car						1.000	0.219	0.675**	0.097	0.129
CAT							1.000	0.309	0.036	0.351
POD								1.000	0.512*	0.185
SOD									1.000	0.345
有效铁										1.000

说明: ** 相关显著水平 $P < 0.01$; * 相关显著水平 $P < 0.05$ 。

素(Car)与 POD 和 SOD 均呈极显著正相关关系, 与叶绿素/类胡萝卜素(Chl/Car)呈显著正相关关系, 与叶绿素 a/叶绿素 b(Chla/Chlb)呈显著负相关关系; 叶绿素 a/叶绿素 b(Chla/Chlb)与 POD 呈极显著负相关关系, 与叶绿素/类胡萝卜素(Chl/Car)呈显著负相关关系; 叶绿素 a(Chla), 叶绿素 b(Chlb)和叶绿素/类胡萝卜素(Chl/Car)也与 POD 呈极显著的正相关关系; 3 种保护性酶之间只有 POD 和 SOD 呈显著正相关关系。

3 讨论与结论

3.1 黄化程度与光合色素的关系

通常情况下, 叶片呈绿色是因为叶绿素相对含量高而类胡萝卜素含量低, 其比值约 3 : 1^[13]。本试验中叶绿素与叶绿素 a, 叶绿素 b, 类胡萝卜素, 叶绿素/类胡萝卜素均呈显著的正相关关系, 与叶绿素 a/叶绿素 b 呈一定的负相关关系; 随着黄化程度加重, 叶绿素 a, 叶绿素 b, 类胡萝卜素各指标均下降, 叶绿素/类胡萝卜素则表现为一个先升后降的趋势。这说明轻度黄化时, 樟树叶片中叶绿素相对含量下降量较类胡萝卜素少, 而严重黄化的叶片中叶绿素相对含量下降的幅度要比类胡萝卜素大得多, 呈现出越来越严重的黄色症状。随着黄化程度加重, 叶绿素 a/叶绿素 b 的比值显著增加, 这和李春霞等^[14]的研究一致。叶绿素相对含量和叶绿素 a/叶绿素 b 是反映光合器官生理状况的重要指标^[15], 叶绿素 a/叶绿素 b 的比值显著增加说明黄化叶片中叶绿素 a 和叶绿素 b 相对含量不稳定, 其中叶绿素 b 的稳定性较叶绿素 a 更差, 更容易分解, 导致了叶绿素 a/叶绿素 b 的比值增大。2 种不稳定的叶绿素比例不能满足樟树正常的光合作用, 进一步导致了叶绿素相对含量下降, 叶片表现为黄化。因此可以用叶绿素 a/b 或者叶绿素/类胡萝卜素来表征樟树叶片的黄化程度。

3.2 黄化程度与抗氧化酶活性的关系

目前已有许多报道指出, 植物在逆境条件下其体内出现的伤害以及植物对逆境的不同抵抗能力与体内的 SOD, POD, CAT 相对活性有关, 其活性越高, 植物对逆境的适应性越强^[16-17]。在本研究中, 随着樟树叶片黄化加重, SOD, POD, CAT 相对活性都随之降低。SOD 相对活性在轻度黄化(1 ~ 4 级)时明显下降, 严重黄化(4 ~ 7 级)时变化平缓; 而 POD 活性表现则正好相反, 初期变化较小, 后期急剧下降; CAT 活性总体表现为下降趋势, 但在这个变化过程中却有一个活性增加的高峰。这可能是因为 SOD 作为植物抗氧化系统的第一道防线, 在 SOD 的作用下通过催化歧化反应, 将 $O_2^{\cdot -}$ 歧化为 O_2 和 H_2O_2 , 并在 CAT 和 POD 的协同作用下, 消除自由基的伤害作用^[18]。通过相关性分析发现, SOD 和 POD 与叶绿素相对含量呈极显著正相关关系, 叶绿素相对含量的下降也导致了两者酶活性的急剧下降, 因此, 也可以用 SOD 和 POD 的活性来表征樟树叶片的黄化程度, 具体关系有待于进一步研究。

3.3 黄化程度与有效铁的关系

现有大多数研究证明, 植物缺铁会导致叶绿素合成减少, 叶片光合作用下降, 叶绿素含量的高低与活性铁之间存在良好的相关性^[19-20]。本研究发现, 有效铁相对含量随着黄化程度的加重呈现先增加后降低的趋势, 与叶绿素含量间存在一定的正相关关系, 与保护性酶活性间存在一定的正相关关系。这是因为在黄化初期, 植物的各项生理活动比较旺盛, SOD, POD 和 CAT 各项酶活性都保持较高, 植物体能够通过根系吸收土壤中的铁或者由其他形式的铁转化为有效铁来抵抗不良环境, 致使其体内有效铁含量升高; 随着黄化程度加深, 樟树各项生理活性降低, 生长机能减弱, 光合作用继续消耗含铁化合物(如铁蛋白、高铁血红素等), 进一步导致了植物有效铁含量的降低。

参考文献:

- [1] 傅伟军. 龙泉桃树缺铁黄化的研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.
FU Weijun. A Study on Iron Deficiency Chlorosis of Peach in Longquan[D]. Chengdu: Chengdu University, 2006.
- [2] 王翠玲, 周卫东, 杨晓明, 等. 石灰质土壤上不同葡萄品种叶片的铁含量与其黄化的关系[J]. 园艺学报, 2007, 34(4): 829 - 834.
WANG Cuiling, ZHOU Weidong, YANG Xiaoming, et al. Studies on chlorosis and iron contents of leaves from different

- grapevine cultivars on calcareous soil [J]. *Acta Horti Sin*, 2007, **34** (4): 829 – 834.
- [3] 薛进军, 张宝忠, 沈广城, 等. 矫正苹果缺铁失绿症途径及机理研究[J]. 中国农业大学学报, 2003, **8** (增刊): 47 – 52.
- XUE Jinjun, ZHANG Baozhong, SHEN Guangcheng, *et al.* Approach to the mechanism of remedying iron efficiency chlorosis in apple trees [J]. *J China Agric Univ*, 2003, **8** (supp): 47 – 52.
- [4] 任丽轩, 左元梅, 江荣凤, 等. 石灰性土壤上 HCO_3^- 诱导花生缺铁失绿机制[J]. 生态学报, 2005, **25** (4): 795 – 801.
- REN Lixuan, ZUO Yuanmei, JIANG Rongfeng, *et al.* Mechanisms of bicarbonate induced iron-deficiency chlorosis of peanut on calcareous soils [J]. *Acta Ecol Sin*, 2005, **25** (4): 795 – 801.
- [5] 王玉华, 王丽云. 碱性水土地区盆栽杜鹃花缺铁黄化防治的研究[J]. 北京林业大学学报, 1997, **19** (2): 63 – 68.
- WANG Yuhua, WANG Liyun. Prevention and cure of iron chlorosis of pot azalea in the lime soil and water areas [J]. *J Beijing For Univ*, 1997, **19** (2): 63 – 68.
- [6] 于永忠, 张荣根. 香樟黄化病的简易防治方法[J]. 农业装备技术, 2005, **31** (1): 35.
- YU Yongzhong, ZHANG Ronggen. The simple preventing and controlling method of chlorotic *Cinnamomum camphora* [J]. *Agric Equip Technol*, 2005, **31** (1): 35.
- [7] 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: 134 – 137.
- [8] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 68 – 69.
- [9] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2006: 168 – 170.
- [10] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 169 – 170.
- [11] MOHAMMAD M, NAJIM H, KHRESAT S. Nitric acid and O-phenanthroline-extractable iron for diagnosis of iron chlorosis in citrus trees [J]. *Commun Soil Sci & Plant Anal*, 1998, **29** (7–8): 1035 – 1043.
- [12] KOSEOGU A T. Effect of iron chlorosis on mineral composition of peach trees [J]. *J Plant Nutr*, 1995, **18** (4): 765 – 776.
- [13] 王宝山. 植物生理学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2007: 73.
- [14] 李春霞, 刘桂华, 周敏, 等. 香樟生理黄化的叶绿素年变化规律[J]. 安徽农学通报, 2008, **14** (9): 30 – 32.
- LI Chunxia, LIU Guihua, ZHOU Min, *et al.* Variation of chlorophyll content in chlorotic *Cinnamomum camphora* [J]. *Anhui Agri Sci Bull*, 2008, **14** (9): 30 – 32.
- [15] STOBART A K, GRIFFITHS W T, AMEEN-BUKHARI I, *et al.* The effects of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley [J]. *Plant Physiol*, 1985, **63**: 293 – 298.
- [16] WALK M A, MCKERSIE B D. Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato [J]. *Plant Physiol*, 1993, **141**: 234 – 239.
- [17] 宴斌, 戴秋杰. 紫外线 B 对水稻叶组织中活性氧代谢及膜系统的影响[J]. 植物生理学报, 1996, **22** (4): 373 – 378.
- YAN Bin, DAI Qiujie. Effects of ultraviolet-B radiation on active oxygen metabolism and membrane system of rice leaves [J]. *Acta Phytophysiol Sin*, 1996, **22** (4): 373 – 378.
- [18] 郭道宇, 董志, 宫辉力, 等. 再生水对作物种子萌发、幼苗生长及抗氧化系统的影响[J]. 环境科学学报, 2006, **26** (8): 1337 – 1342.
- GUO Xiaoyu, DONG Zhi, GONG Huili, *et al.* Effects of reclaimed water on seed germination, growth and antioxidant system in crops [J]. *Acta Sci Circum Stantiae*, 2006, **26** (8): 1337 – 1342.
- [19] MENGEL K, KIRKBY E A. 植物营养原理[M]. 张宜春, 刘同仇, 谢振翅, 等译. 北京: 农业出版社, 1987.
- [20] 毛富春, 张凤云, 赵先贵, 等. 美味猕猴桃叶片有效铁含量与黄页病相关性研究 [J]. 西北农业学报, 2002, **11** (2): 54 – 56.
- MAO Fuchun, ZHANG Fengyun, ZHAO Xiangui, *et al.* Relativity of active iron contents and chlorosis in the Kiwis leaf [J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*, 2002, **11** (2): 54 – 56.