

# 黄山松不同龄阶针叶衰老指标的比较研究\*

李东林 严景华 曹恒生 蔡丽琼 叶要清

关键词 黄山松 针叶衰老 自由基

衰老是最终导致有机体或器官死亡的变化过程,是生命过程的必然规律。对植物体衰老的研究起步较晚,且主要是在一些农作物上进行,如水稻<sup>[1]</sup>、大麦<sup>[2]</sup>、小麦<sup>[3]</sup>等等。近几年对一些经济植物衰老的研究也日益增多,如板栗(*Castanea mollissima* BL.)<sup>[4]</sup>等。而对裸子植物衰老状况的研究在国内还未见报道。黄山松(*Pinus taiwanensis* Hay)是我国东南部海拔 700 m 以上的山地主要树种,是建筑、桥梁、枕木、车船、家具等良好用材。黄山松在岩石裸露的山脊、悬崖陡壁的石缝中都可生长,其树形奇特优雅,千姿百态,如“迎客松”、“送客松”、“团结松”等奇松名树闻名遐迩,它是黄山“云海”、“温泉”、“怪石”、“奇松”四绝之一。据调查黄山地区有些黄山松林包括一些名木已有数百年以上的历史,现已出现过熟衰退的现象。因此,对黄山松衰老的研究有着特殊的意义。本文对不同龄阶黄山松几项生理指标进行了比较分析,试图找出其衰老的生理生化指标,以便对黄山松衰老状况进行诊断,并采取相应延缓衰老的措施,保护珍贵的旅游资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

黄山松针叶,取自安徽省黄山旅游风景区光明顶。1996年9月10日在同一立地条件下设立标准地,按3%选择有代表性的松树做样树,各龄阶3株,在树冠中上部东西南北四个方向的枝条上取当年生的松针约100g。混合后随机取100根松针,量松针长度(表1),然后取松针中间部位约3cm做如下测定。树龄的认定用测树学的生长锥测定法。

表1 样树发育状况

指 标	树 龄 (a)					
	20	40	60	80	100	150
针叶长度(cm)	4.5~5.2	6.8~8.0	6.3~7.9	6.2~7.5	5.8~7.0	4.5~7.0
色 泽	绿色有光泽 稍软	浓绿有光泽 粗硬	浓绿有光泽 粗硬	浓绿有光泽 粗硬	绿色 稍软	绿色不鲜泽 细软

### 1.2 生理生化指标测定

1.2.1 叶绿素含量测定 取针叶用80%丙酮匀浆,浸提。上清液用751型分光光度计比色。总叶绿素含量及叶绿素a和b含量按下列公式计算:

1997—07—24 收稿。

李东林讲师,严景华,曹恒生(安徽农业大学 合肥 230036);蔡丽琼(安徽师范大学);叶要清(黄山园林局)。

\* 本研究属安徽省科委“八五”重点项目“黄山珍稀树种病害”的内容之一。

$$\text{叶绿素 a (Ca)} = 12.7A_{663} - 2.69A_{645}$$

$$\text{叶绿素 b (Cb)} = 22.9A_{645} - 4.68A_{663}$$

$$\text{总叶绿素含量} = Ca + Cb$$

残渣继续用冷丙酮洗涤、抽滤得丙酮粉。

1.2.2 可溶性蛋白质含量测定 用考马斯亮蓝染色法测定。

1.2.3 SOD 活性测定 称取黄山松针叶丙酮粉 100 mg, 用 0.05M pH 7.8 磷酸缓冲液研磨、浸提 12 h, 离心, 上清液即为粗酶液。用 NBT 光还原法测定 SOD 活性, 以抑制光还原 50% 为一个酶单位<sup>[1]</sup>。

1.2.4 过氧化氢酶含量测定 用碘量法测定<sup>[5]</sup>。

1.2.5 丙二醛(MDA)含量测定 按罗广华的方法测定<sup>[6]</sup>。

## 2 实验结果

### 2.1 不同龄阶黄山松针叶叶绿素含量与组成

从表 2 可以看出, 20~150 龄黄山松针叶叶绿素含量以 40 龄为最高, 其次为 60 龄、80 龄、100 龄, 最低的是 150 龄; 而叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量变化趋势与总叶绿素含量变化趋势基本相同, 叶绿素 a 与 b 的比值 60 龄为最高, 100 龄以后急剧下降。因此, 除 20 龄外, 在供试的几个龄阶的黄山松针叶中, 总叶绿素含量、叶绿素 a 及 b 含量随年龄的增加而下降, 但下降的幅度 100 龄后更为明显。

表 2 不同龄阶黄山松针叶叶绿素含量及组成变化 (单位: mg/g FW)

指 标	龄 阶 (a)					
	20	40	60	80	100	150
总 叶 绿 素	1.429	1.978	1.835	1.651	1.486	1.341
叶 绿 素 a	1.103	1.553	1.438	1.275	1.128	1.017
叶 绿 素 b	0.326	0.425	0.397	0.376	0.358	0.324
叶绿素 a/叶绿素 b	3.384	3.356	3.624	3.395	3.143	3.139

### 2.2 不同龄阶黄山松针叶中可溶性蛋白质含量的比较

在不同龄阶的黄山松针叶中, 40 龄可溶性蛋白质含量最高, 占丙酮干粉的 7.11%, 20 龄、60 龄、80 龄的含量基本相同, 100 龄以上下降速度加快, 到 150 龄时可溶性蛋白质含量仅为 40 龄的 56.8% (图 1)。

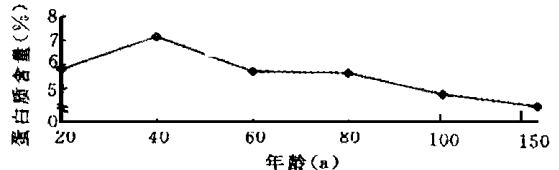


图 1 不同龄阶黄山松针叶可溶性蛋白质含量

### 2.3 不同龄阶黄山松针叶中 SOD、CAT 活性比较

如图 2 所示, 20~60 龄黄山松针叶中 SOD 活性变化不大, 至 80 龄后开始下降。CAT 活性随年龄的增长下降显著, 特别在 80 龄以后活性急剧下降。与此同时, 脂质过氧化产物 MDA 含量上升 (图 3)。

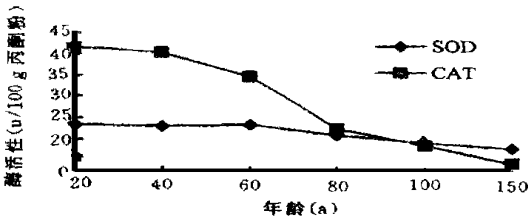


图2 不同龄阶黄山松针叶 SOD、CAT 活性

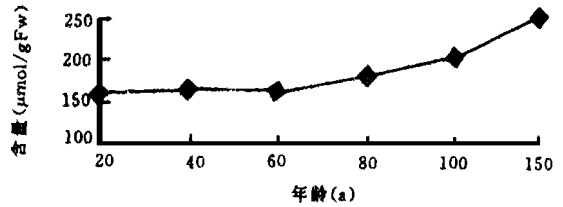


图3 不同龄阶黄山松针叶中 MDA 含量

### 3 分析与讨论

植物体的衰老和死亡是植物生长的必然规律。在植物的衰老过程中,其同化作用减弱,异化作用加强,大量有机物分解。因此通常将与同化作用密切相关的叶绿素的变化作为衰老的首要指标,其次为可溶性蛋白质的含量<sup>[7,8]</sup>。大量的研究表明,在植物的衰老过程中,叶片内叶绿素含量和蛋白质含量均下降<sup>[7]</sup>。在本实验中叶绿素和蛋白质含量下降较明显地发生在80龄以后。同时,叶绿素的组成也发生改变,叶绿素a、b含量均下降,但叶绿素a下降速度比叶绿素b快,叶绿素a在总叶绿素中所占比例降低。植物光合作用吸收光能的主要色素是叶绿素a,叶绿素b和大部分叶绿素a是吸收光能的辅助性色素,Woolhouse报道叶绿素a与叶绿素b比值下降促进衰老<sup>[3]</sup>,叶绿素a/叶绿素b的比值下降是否预示着植物光合能力的减弱,有待进一步研究。从本文的研究结果看,在同一立地条件下,40~80龄针叶长均在7cm左右,叶色浓绿有光泽,发育状况优等;而在100龄后,针叶长度缩短,叶色变淡、细软,开始出现衰老症状。而作为针叶衰老的主要指标,叶绿素和蛋白质含量的变化趋势与之基本同步,100龄针叶与40龄相比,叶绿素含量降低了27.3%,蛋白质含量降低了36%;20龄针叶由于受取样条件的限制,只找到两株发育状况较差的样树,故其针叶发育状况及生理生化指标均无法与40龄相比,因此在本文中均以40龄松针作为参照。目前,国内外主要从树体的枝、叶、树冠三方面的外部形态发育状况来判断植物体的生长发育状况。作者认为植物叶片是植物进行同化作用的主要器官,而叶绿素又是接受光能的主要物质,叶片的衰老状况在很大程度上反映了树体的衰老。本文通过比较测定松针的某些生理生化指标,结合黄山松的外部形态(如针叶长度等),认为针叶叶绿素和蛋白质含量可以作为黄山松衰老状况的生理指标。这种方法简便而不伤树体。

自从50年代提出衰老的自由基损伤学说以来,自由基与生物衰老关系的研究目前已普遍被人们所重视。植物在自然条件下进行光合作用的过程中,不可避免地要经受高温、强光的影响,光激发产生的多余能量在光合器官内产生 $O_2^{2-}$ ,并通过启动自由基的链反应及其它类型的再氧化产生羟基自由基( $OH^-$ )及过氧化氢( $H_2O_2$ ),直接或间接启动膜的过氧化作用,导致膜的损伤和破坏<sup>[9,10]</sup>。细胞本身有对抗自由基毒害的内源保护系统,超氧自由基的主要清除者是SOD,过氧化氢的主要清除者是CAT,从而使细胞的膜系统保持稳定<sup>[11]</sup>。从本实验结果可以看出,黄山松针叶中的SOD、CAT在20~80龄保持较高水平,80龄后酶活性下降,特别是CAT的活性下降显著,同时MDA含量相应上升。这说明黄山松逐渐进入老龄期后,由于膜的内源保护性酶活性的降低,难以对抗体内的自由基,自由基大量积累加速了膜脂上不饱和脂肪酸的过氧化作用,这是黄山松衰老的关键原因。若能从增加膜稳定性,促进黄山松新陈代谢,调

节 SOD、CAT 等酶的活性入手, 可望达到延缓黄山松衰老的目的。

### 参 考 文 献

- 1 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 1984, 26 (6): 605 ~ 615.
- 2 Cohen A S. Effects of polyamines on chlorophyll and protein content photchemical activity and chloroplast ultra-structure of barley leaf during senescence. Plant Physiol., 1979, 64(3): 717 ~ 720.
- 3 李文雄. 小麦衰老生理. 国外农学——小麦, 1986, (1): 23 ~ 26.
- 4 李顺文, 徐东生. 板栗叶片生理初探. 湖北林业科技, 1996, (3): 7 ~ 10.
- 5 张宪政, 陈凤玉, 王荣富. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1992. 100.
- 6 王爱国. 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨. 植物生理学通讯, 1986, (2): 55 ~ 57.
- 7 刘道宏. 植物叶片的衰老. 植物生理学通讯, 1983, (2): 14 ~ 19.
- 8 方志伟. 水稻叶片叶绿素含量变化与光合作用的关系. 南京农业大学学报, 1987, (4): 18 ~ 22.
- 9 王荣富, 崔继林, 聂毓琦. 水稻品种超氧化物歧化酶(SOD)活性与氧抑光合的关系. 植物生理学报, 1987, 13(3): 257 ~ 264.
- 10 Dhindsa R S, Plumb-Dhinsa P, Theorpe A T. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of dismutase and catalase. J. Exp. Bot., 1981, 32: 93 ~ 101.
- 11 郑荣梁. 自由基生物学. 北京: 高等教育出版社, 1992. 59 ~ 63.

## Some Senescence Characteristics of the Leaf of *Pinus taiwanensis*

Li Donglin Yan Jinghua Cao Hengsheng Cai Liqiong Ye Yaoqing

**Abstract** This paper was about the study on senescence of *Pinus taiwanensis*. The results showed: with the increase of age, (1) the contents of chlorophyll and protein, the ratio of chlorophyll a/chlorophyll b declined; (2) the activity of SOD and CAT decreased and decrease of the activity of CAT was more significant; (3) the content of MDA rose. It is concluded that the content of chlorophyll and protein, the ratio of chl. a/chl. b could be regarded as the index of senescence of *P. Taiwanensis*. There was a direct interrelation between leaf senescence and free radical.

**Key words** *Pinus taiwanensis* leaf senescence free radical

Li Donglin, Lecturer, Yan Jinghua, Cao Hengsheng (Anhui Agricultural University Hefei 230036); Cai Liqiong (Anhui Normal University); Ye Yaoqing (Huangshan Gardens Situation).