

# 土壤干旱胁迫对酸枣叶片黄酮类代谢及某些生长和生理指标的影响

王改利, 魏忠, 贺少轩, 周雪洁, 梁宗锁<sup>①</sup>

(西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 采用盆栽称量法研究了对照、中度和重度干旱(土壤相对含水量分别为 75%、55% 和 35%) 条件下 1 年生酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow] 幼苗叶片中黄酮类成分含量及一些生长和生理指标的变化, 并讨论了酸枣适应干旱过程中黄酮类成分的作用。结果表明: 在中度和重度干旱条件下酸枣叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性均高于对照, 但经重度干旱处理后复水第 7 天 PAL 活性与对照无显著差异。与对照相比, 中度干旱条件下叶片槲皮素含量基本无变化, 总黄酮和芦丁含量分别显著或极显著增加, 丙二醛和可溶性蛋白质含量无显著变化; 与中度干旱条件相比, 重度干旱条件下叶片总黄酮、芦丁和槲皮素含量显著或极显著下降, 丙二醛含量不显著增加, 可溶性蛋白质含量显著降低; 与对照相比, 重度干旱条件下总黄酮含量无明显变化, 芦丁和丙二醛含量极显著或显著增加, 槲皮素和可溶性蛋白质含量显著下降; 复水第 7 天, 总黄酮、芦丁和槲皮素含量均显著或极显著高于复水前, 且总黄酮和芦丁含量显著高于对照, 槲皮素含量与对照无显著差异; 复水第 1 天至第 4 天, 丙二醛含量呈先降后增再降的趋势, 可溶性蛋白质含量则呈先降低后逐渐增加的趋势, 其中复水第 1 天丙二醛含量显著高于复水前, 可溶性蛋白质含量显著低于复水前。在中度或重度干旱胁迫后酸枣枝条长度均极显著小于对照, 且随土壤相对含水量的降低枝条长度减小; 叶片相对含水量也表现出随土壤相对含水量的降低逐渐减小的趋势, 但差异不显著。研究结果提示: 适宜的干旱胁迫可促进酸枣叶片黄酮类代谢, 但在不同的干旱胁迫条件下, 黄酮类代谢在酸枣抗旱过程中具有不同的作用。

**关键词:** 酸枣; 土壤干旱; 黄酮类; 生理指标; 抗旱机制

中图分类号: Q945.78; Q946.8; Q948.112<sup>+</sup>.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2011)03-0001-08

**Effects of drought stress in soil on flavonoids metabolism in leaf and some growth and physiological indexes of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa*** WANG Gai-li, WEI Zhong, HE Shao-xuan, ZHOU Xue-jie, LIANG Zong-suo<sup>①</sup> (College of Life Sciences, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2011, 20(3): 1-8

**Abstract:** Changes of flavonoids component content in leaf and some growth and physiological indexes of one-year-old seedlings of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow under control, moderate drought and heavy drought conditions (relative water content in soil with 75%, 55% and 35%, respectively) were studied by pot weighing method, and role of flavonoids component in adapting process to drought was discussed. The results show that PAL activity in *Z. jujuba* var. *spinosa* leaf under moderate and heavy drought conditions is higher than that of the control, but that in the 7th day of rehydration treatment after heavy drought has no significant difference with that of the control. Compared with the control, under moderate drought condition, quercetin content in leaf has no change basically, total flavonoids and rutin contents increase significantly or obviously significantly, respectively, and MDA and soluble protein contents have no significant change. Compared with moderate drought condition, under heavy drought condition, contents of total flavonoids, rutin and quercetin in leaf decrease significantly or obviously significantly, MDA content increases un-significantly, and soluble protein

收稿日期: 2010-12-15

基金项目: 中国科学院知识创新重要方向项目(KZCX2-YW-443); “十一五”国家科技支撑计划项目(2008BAD98B08-3)

作者简介: 王改利(1984—), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事植物水分与抗旱分子生物学方面的研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: liangzs@ms.iswc.ac.cn

content decreases significantly. Compared with the control, under heavy drought condition, total flavonoids content in leaf has no obvious change, contents of rutin and MDA increase obviously significantly or significantly, and contents of quercetin and soluble protein decrease significantly. In the 7th day of rehydration treatment, contents of total flavonoids, rutin and quercetin are higher significantly or obviously significantly than those before rehydration treatment. And contents of total flavonoids and rutin are higher significantly than those of the control, quercetin content has no significant difference with that of the control. From the 1st to the 4th days of rehydration treatment, MDA content appears the trend of decreasing-increasing-decreasing and soluble protein content shows the trend of first decreasing then increasing gradually, in which MDA content is higher significantly and soluble protein content is lower significantly in the 1st day than those before rehydration treatment. After moderate or heavy drought stress, branch length of *Z. jujuba* var. *spinosa* is extremely significantly smaller than that of the control, and that decreases with reducing of relative water content in soil. And relative water content in leaf also appears the trend of decreasing gradually with reducing of relative water content in soil, but there is no significant difference. The research results suggest that proper drought stress may promote flavonoids metabolism in *Z. jujuba* var. *spinosa* leaf, but flavonoids metabolism plays different roles in resisting of *Z. jujuba* var. *spinosa* to drought stress under different drought stress conditions.

**Key words:** *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow; soil drought; flavonoids; physiological index; mechanism of drought resistance

酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow] 系鼠李科 (Rhamnaceae) 落叶灌木或小乔木, 耐旱性强<sup>[1]</sup> 且其生态幅很广, 从湿润的东海海滨到极度干旱的新疆均能正常生长<sup>[2]</sup>, 是广泛分布于中国北方诸省区的野生药用植物资源<sup>[3]</sup>。关于酸枣的研究大多集中于其各部位的化学成分分析。李兰芳等<sup>[4]</sup> 报道了酸枣叶中至少含有 4 个黄酮类化合物, 且以芦丁为主。

土壤含水量不仅影响植物基础代谢和生长发育<sup>[5]</sup>, 而且对植物次生代谢产物的含量也有一定的影响<sup>[6-7]</sup>。长期以来, 人们对由水分胁迫带来的植物形态、生物量和生理代谢的变化以及信号传导的分子生物学机制进行了广泛研究<sup>[8-10]</sup>。对大多数植物而言, 次生代谢产物的合成往往受制于其所处环境的变化, 并以此决定合成次生代谢产物的种类和数量。也就是说, 次生代谢产物在植物体内的合成和积累是在植物具有相关基因的基础上、在一定的环境条件诱导下共同作用的结果<sup>[11]</sup>。

酸枣叶片中黄酮类代谢途径是其主要的次生代谢途径, 但土壤含水量对酸枣叶片中黄酮类成分的合成和积累的影响及黄酮类代谢在酸枣叶片中的作用还未见报道。本研究以不同土壤相对含水量对 1 年生酸枣叶片生理代谢及主要次生代谢产物含量的影响为基点, 研究了黄酮类代谢在酸枣叶片适应干旱胁迫中的作用, 以期从更深的层次探讨植物与环境的内在联系, 为全面、深入认识植物与环境的相互关系提

供新的研究途径; 同时也为更有效、合理地利用植物的次生代谢产物提供有力的证据<sup>[12]</sup>。此外, 可以在将酸枣作为水土保持树种、改善生态环境的同时充分利用其药用价值, 达到综合可持续利用酸枣资源的目的。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试酸枣仁采自陕西延安酸枣基地, 经西北农林科技大学张跃进副教授鉴定系鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子。

所用仪器: Waters1525 二元高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Waters2996 二极管阵列检测器 (美国 Waters 公司); C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); Empower2 色谱分析软件 (美国 Waters 公司); UPT-II20T 优普超纯水机 (上海优普科技公司); 岛津 UV-1700 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); KQ-250B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

所用试剂: 甲醇、乙腈、冰乙酸和磷酸均为色谱纯, 其中甲醇和乙腈购自美国 Fisher Scientific 公司; 冰乙酸和磷酸购自天津市科密欧化学试剂有限公司; 芦丁 (批号: 100080-200707, 纯度 98%) 和槲皮素 (批号: 100081-200406, 纯度 97.3%) 标准品均购自中国食品药品检定研究院。

## 1.2 方法

1.2.1 干旱胁迫处理及生长和生理指标测定方法 挑选颗粒饱满、无虫害、大小一致的酸枣仁,用质量浓度  $0.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{GA}_3$  溶液浸泡 24 h,蒸馏水冲洗干净;于 2010 年 3 月播种于高 27 cm、上口径 35 cm、下口径 22 cm 的塑料桶内,每桶播种 12 粒酸枣仁;栽培基质为  $W(\text{过筛土}):W(\text{蚯蚓粪}):W(\text{细沙})=3:1:1$  的混合基质,田间最大持水量为 28%;首次浇透水后待萌芽。盆栽桶置于中国科学院水利部水土保持研究所透光防雨棚内,栽培期间进行适当的人工除草。

土壤含水量设置 3 个处理,分别为田间最大持水量的 75% (对照,适宜水分)、55% (中度干旱) 和 35% (重度干旱),即土壤相对含水量分别为 75%、55% 和 35%。幼苗生长 1 个月后进行间苗,每桶保留 6 株,每个处理 15 桶,每处理共计 90 株。于 5 月中下旬进行胁迫处理,不浇水,待土壤水分自然耗至田间最大持水量的 75%、55% 和 35% 后开始干旱胁迫处理(即 2010 年 5 月 26 日),通过称取盆栽桶质量的方法控制土壤含水量。

从 2010 年 6 月 15 日开始,每个处理组选取 6 条长势一致的枝条进行标记,每隔 15 d 测定标记枝条的长度,各测定 3 次并取平均值;从 2010 年 7 月 1 日开始每隔 15 d 测定 1 次叶片相对含水量,于每个采样日的早上采集第 3~5 叶位的成熟叶片,立即带回实验室测定叶片相对含水量。

胁迫处理 60 d 后终止胁迫,对各处理组均采样,用于丙二醛和可溶性蛋白质含量以及苯丙氨酸解氨酶活性的测定。同时,对重度干旱(土壤相对含水量 35%)处理组进行复水处理(复水至土壤相对含水量 75%),在复水的第 1 天至第 4 天每天采样测定丙二醛和可溶性蛋白质含量以及苯丙氨酸解氨酶活性,每个处理重复测定 3 次。

叶片相对含水量的测定采用烘干法<sup>[13]138-139</sup>;枝条长度采用游标卡尺测量;丙二醛含量的测定采用硫代巴比妥酸法<sup>[13]176-177</sup>;可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[13]171-172</sup>;苯丙氨酸解氨酶活性的测定参照文献[14]的方法。

1.2.2 黄酮类成分含量的测定方法 于干旱胁迫处理结束后及复水 7 d 后采样,用于总黄酮、芦丁和槲皮素含量的测定。取酸枣地上部分,立即于 105 °C 杀青 30 min,然后收集叶片,在 60 °C 条件下干燥至恒质量,粉碎后过 60 目筛,备用。

1.2.2.1 总黄酮标准曲线的绘制和样品溶液制备及测定 采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法<sup>[13]181-182</sup>测定总黄酮含量,以芦丁为标准品,于 510 nm 处测量吸光值,以芦丁质量浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )为横坐标( $x$ )、吸光度为纵坐标( $y$ ),得到标准曲线回归方程  $y=0.0116x+0.0096$  ( $R^2=0.999$ )。

称取前述粉末样品每份约 0.100 g,每个处理称取 3 份,即每个处理 3 个重复,分别加入 8 mL 体积分数 70% 乙醇,70 °C 超声(工作频率 40 kHz)提取 35 min,用体积分数 70% 乙醇补足至超声处理前的质量,摇匀静置,上清液按照标准曲线的测定方法测定吸光值,根据标准曲线计算样品中总黄酮的含量。

1.2.2.2 芦丁标准曲线的绘制和样品溶液制备及测定 参照文献[15]的 HPLC 法测定芦丁含量。取芦丁标准品适量,精密称定后用甲醇配制成质量浓度  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的芦丁标准品溶液,并用甲醇稀释成一系列梯度标准溶液,按照下述色谱条件进行 HPLC 测定并计算峰面积积分值。色谱条件:流动相为  $V(\text{乙腈}):V(\text{体积分数 } 2\% \text{ 冰乙酸})=25:75$  混合溶液,等度洗脱 10 min,流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;柱温 30 °C;检测波长 257 nm;进样量 20  $\mu\text{L}$ 。以峰面积为横坐标( $x$ )、芦丁质量( $\mu\text{g}$ )为纵坐标( $y$ ),得到芦丁的标准曲线回归方程  $y=7 \times 10^{-7}x$  ( $R^2=0.990$ )。

精确称取前述粉末样品每份 0.125 g,每个处理称取 3 份,即每个处理 3 个重复,分别加入 12 mL 甲醇,静置过夜,于 30 °C 超声提取 1.5 h,用甲醇定容至 25 mL,混匀后用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,滤液按照芦丁标准曲线的色谱条件进行 HPLC 测定,根据标准曲线计算样品中的芦丁含量。

1.2.2.3 槲皮素标准曲线的绘制和样品溶液制备及测定 参照文献[16]的 HPLC 法测定槲皮素含量。精密称取槲皮素标准品适量,用甲醇配制成质量浓度  $195 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的槲皮素标准溶液,并用甲醇稀释成一系列梯度标准溶液,按照下述色谱条件进行 HPLC 测定并计算峰面积积分值。色谱条件:流动相为  $V(\text{甲醇}):V(\text{体积分数 } 0.02\% \text{ 磷酸})=50:50$  混合溶液,等度洗脱 20 min,流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;柱温 30 °C;检测波长 360 nm;进样量 20  $\mu\text{L}$ 。以槲皮素质量浓度为横坐标( $x$ )、峰面积为纵坐标( $y$ ),得到槲皮素的标准曲线回归方程  $y=5 \times 10^7x-61311$  ( $R^2=0.999$ )。

称取前述粉末样品每份 0.625 g,每个处理称取 3 份,即每个处理 3 个重复,分别加入 2.5 mL 甲

醇,静置过夜,于30℃超声提取1.5h,用甲醇补足至超声处理前的质量,提取液经0.45 μm 滤膜过滤,滤液按照槲皮素标准曲线的色谱条件进行HPLC测定,根据标准曲线计算样品中的槲皮素含量。

### 1.3 数据分析

采用Excel 2003软件对实验数据进行整理,用DPS7.55数据分析软件进行统计分析和显著性检验。

## 2 结果和分析

### 2.1 干旱胁迫对酸枣叶片中苯丙氨酸解氨酶活性和黄酮类成分含量的影响

经不同程度土壤干旱胁迫处理及复水处理后,酸枣叶片中苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性及黄酮类成分的含量见表1。由表1可以看出:随土壤相对含水量的降低,酸枣叶片中PAL活性呈现逐渐增加的趋势。对照(适宜水分,土壤相对含水量75%)和中度干旱(土壤相对含水量55%)处理组间PAL活性差异不显著,重度干旱(土壤相对含水量35%)处理组的PAL活性显著高于对照及中度干旱处理组,重度干旱且复水7d后PAL活性显著低于复水前,但仍高于对照。PAL是苯丙烷类代谢途径的关键酶和限速酶,因

而,干旱胁迫条件下酸枣叶片PAL活性增加的原因可能与苯丙烷类代谢加强有关。

与对照相比,中度干旱胁迫条件下酸枣叶片中总黄酮和芦丁含量分别显著和极显著增加;而与中度干旱处理组相比,重度干旱胁迫条件下总黄酮和芦丁含量分别显著和极显著减少;经重度干旱胁迫后复水处理7d的酸枣叶片总黄酮和芦丁含量较复水前分别显著和极显著增加。说明中度干旱胁迫有利于酸枣叶片黄酮类成分的积累,重度干旱胁迫则导致黄酮类成分含量的下降。分析其原因可能是:在中度干旱胁迫条件下酸枣叶片PAL活性增强,黄酮类合成增加;而在重度干旱条件下,一方面黄酮类合成代谢减弱,另一方面芦丁在芦丁糖苷酶的作用下降解,为植株的生长提供能量,一定程度上起到缓解土壤干旱胁迫的作用。

与对照相比,在中度干旱条件下酸枣叶片中槲皮素含量几乎无显著变化;但在重度干旱条件下,槲皮素含量显著低于中度干旱处理组和对照;经重度干旱胁迫后复水7d的酸枣叶片的槲皮素含量显著高于复水前,但与中度干旱处理组和对照无显著差异。分析其原因可能与重度干旱胁迫条件下槲皮素的降解有关。

表1 土壤干旱胁迫对酸枣叶片中苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性和黄酮类成分含量的影响( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Effect of drought stress in soil on PAL activity and flavonoids content in leaf of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理 <sup>2)</sup> Treatment <sup>2)</sup>	PAL活性/ $U \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ PAL activity	总黄酮含量/ $mg \cdot g^{-1}$ Total flavonoids content	芦丁含量/ $mg \cdot g^{-1}$ Rutin content	槲皮素含量/ $\mu g \cdot g^{-1}$ Quercetin content
CK	9 910.61±901.28b	3.55±0.05c	3.38±0.20D	98.58±8.36a
MD	11 195.52±40.88b	3.77±0.14b	6.00±0.23A	98.24±1.78a
SD	12 549.33±512.21a	3.39±0.11c	4.40±0.18C	85.04±4.20b
R7	10 828.16±921.04b	4.23±0.08a	5.45±0.10B	106.67±7.83a

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写或大写字母分别表示差异显著( $P < 0.05$ )或极显著( $P < 0.01$ ) Different small letters or capitals in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) or extremely significant ( $P < 0.01$ ) differences, respectively.

<sup>2)</sup> CK: 对照(土壤相对含水量75%) Control (75% relative water content in soil); MD: 中度干旱胁迫(土壤相对含水量55%) Moderate drought stress (55% relative water content in soil); SD: 重度干旱胁迫(土壤相对含水量35%) Heavy drought stress (35% relative water content in soil); R7: 经重度干旱胁迫后复水第7天 In the 7th day of rehydration treatment after heavy drought stress.

### 2.2 干旱胁迫对酸枣枝条生长的影响

土壤干旱条件下酸枣幼苗枝条长度的动态变化见表2。由表2可以看出:对照组不同生长时间段酸枣枝条的长度均最长;中度干旱胁迫条件下,不同生长时期的酸枣枝条长度小于对照;重度干旱胁迫条件下,不同生长时期的酸枣枝条长度最短。除9月13日外,各生长时期对照组、中度干旱和重度干旱胁迫处理组间枝条长度均有极显著差异( $P < 0.01$ )。在整

个胁迫处理期间,对照组及各处理组酸枣枝条长度均随生长时间的延长呈逐渐增加的趋势;9月份以后酸枣生长缓慢,对照组与中度干旱处理组间酸枣枝条长度差异不显著,但均极显著高于重度干旱处理组。

### 2.3 干旱胁迫对酸枣叶片相对含水量的影响

土壤干旱胁迫条件下酸枣叶片相对含水量的变化见表3。由表3可以看出:不同生长时期酸枣叶片相对含水量存在差异,但均随土壤相对含水量的降低

而下降且降幅不大,均能维持在较高的水平;且同一时期不同处理组间的酸枣叶片相对含水量差异不显

著( $P>0.05$ )。说明酸枣对干旱胁迫有较强的适应能力。

表2 土壤干旱胁迫条件下酸枣枝条长度的变化( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Change of branch length of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow under drought stress in soil ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理 <sup>2)</sup> Treatment <sup>2)</sup>	不同日期(MM-DD)枝条长度/cm Branch length at different dates (MM-DD)						
	06-15	06-30	07-15	07-30	08-14	08-29	09-13
CK	7.07±0.31A	9.00±0.30A	11.30±0.70A	13.77±0.25A	15.33±0.76A	15.43±0.40A	15.73±0.55A
MD	5.50±0.10B	6.40±0.46B	9.03±0.45B	10.90±0.36B	12.43±0.60B	13.10±0.36B	15.03±0.25A
SD	4.00±0.20C	4.97±0.25C	6.27±0.25C	7.00±0.20C	8.20±0.26C	8.90±0.36C	9.23±0.35B

<sup>1)</sup> 同列中不同的大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ ) Different capitals in the same column indicate the extremely significant difference ( $P<0.01$ ).

<sup>2)</sup> CK: 对照(土壤相对含水量75%) Control (75% relative water content in soil); MD: 中度干旱胁迫(土壤相对含水量55%) Moderate drought stress (55% relative water content in soil); SD: 重度干旱胁迫(土壤相对含水量35%) Heavy drought stress (35% relative water content in soil).

表3 土壤干旱胁迫条件下酸枣叶片相对含水量的变化( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 3 Change of relative water content in leaf of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow under drought stress in soil ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理 <sup>2)</sup> Treatment <sup>2)</sup>	不同日期(MM-DD)叶片相对含水量/% Relative water content in leaf at different dates (MM-DD)				
	07-01	07-16	07-31	08-15	08-30
CK	71.90±4.05a	86.49±3.60a	79.81±6.22a	91.30±4.29a	85.23±3.96a
MD	70.02±3.33a	85.10±3.40a	78.21±5.34a	85.70±3.47a	84.17±3.27a
SD	64.90±2.80a	80.18±4.79a	74.55±4.11a	84.06±2.73a	77.01±5.48a

<sup>1)</sup> 同列中相同的小写字母表示差异不显著( $P>0.05$ ) Same small letters in the same column indicate no significant difference ( $P>0.05$ ).

<sup>2)</sup> CK: 对照(土壤相对含水量75%) Control (75% relative water content in soil); MD: 中度干旱胁迫(土壤相对含水量55%) Moderate drought stress (55% relative water content in soil); SD: 重度干旱胁迫(土壤相对含水量35%) Heavy drought stress (35% relative water content in soil).

在整个干旱胁迫处理期间,随着时间的延长对照组与处理组的酸枣叶片相对含水量变化均呈“M”型,其原因可能与实验期间的气温、降雨量和酸枣生长速率有关。7月上旬气温偏低、降雨量小,酸枣生长缓慢,叶片相对含水量相对较低;7月中旬前后酸枣进入快速生长期,气温逐渐升高,7月中旬和8月中旬的气温适宜酸枣生长,且雨水充足,酸枣叶片相对含水量相对较高;而7月下旬降雨少、气温较高,叶片蒸腾速率较快,叶片相对含水量则有所下降,形成了“M”型的变化趋势。

#### 2.4 土壤干旱胁迫对酸枣叶片丙二醛和可溶性蛋白质含量的影响

经土壤干旱胁迫处理及复水后酸枣叶片丙二醛和可溶性蛋白质的含量见表4。由表4可以看出:随着土壤相对含水量的降低,酸枣叶片中丙二醛含量呈增加趋势,而可溶性蛋白质含量则呈下降趋势;中度干旱条件下酸枣叶片丙二醛含量高于对照、可溶性蛋白质含量低于对照,但差异不显著( $P>0.05$ );而重度干旱条件下叶片丙二醛含量显著高于对照,可溶性蛋白质含量则显著低于对照。说明重度干旱胁迫使酸

枣叶片脂质过氧化程度加剧、蛋白质合成受阻,导致叶片丙二醛含量显著增加、蛋白质含量降低,但适度的干旱胁迫对酸枣叶片蛋白质合成无显著影响。

表4 土壤干旱胁迫对酸枣叶片丙二醛和可溶性蛋白质含量的影响( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 4 Effect of drought stress in soil on contents of MDA and soluble protein in leaf of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理 <sup>2)</sup> Treatment <sup>2)</sup>	丙二醛含量/ $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ MDA content	可溶性蛋白质含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Soluble protein content
	CK	2.33±0.19d
MD	2.52±0.16cd	63.68±2.22a
SD	2.85±0.36c	59.31±0.55b
R1	4.29±0.34a	49.88±3.04d
R2	2.36±0.13d	53.59±1.17c
R3	3.39±0.28b	53.86±0.43c
R4	2.38±0.18d	55.92±1.71c

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P<0.05$ ).

<sup>2)</sup> CK: 对照(土壤相对含水量75%) Control (75% relative water content in soil); MD: 中度干旱胁迫(土壤相对含水量55%) Moderate drought stress (55% relative water content in soil); SD: 重度干旱胁迫(土壤相对含水量35%) Heavy drought stress (35% relative water content in soil); R1-R4: 经重度干旱胁迫后复水第1天至第4天 From the 1st to the 4th days of rehydration treatment after heavy drought stress.

由表4还可见:重度干旱胁迫后复水1~4 d,随复水天数的增加,丙二醛含量呈先降后增再降的趋势,可溶性蛋白质含量则呈先降低后逐渐增加的趋势。在复水第1天,叶片的丙二醛含量显著高于复水前、可溶性蛋白质含量显著低于复水前( $P<0.05$ );复水的第2天至第4天,丙二醛含量显著低于复水第1天,可溶性蛋白质含量则显著高于复水第1天。可能的原因是:经过长时间的胁迫处理后酸枣对干旱的土壤环境有所适应,而复水处理致使土壤含水量陡然增加,反而对酸枣造成了一定的影响。

### 3 讨论和结论

植物体内次生代谢产物的合成与积累需要环境条件的诱导<sup>[17]</sup>。对大多数植物而言,次生代谢产物的合成和积累与其所处的环境条件密切相关,只有在特定的环境条件下才能合成特定的次生代谢产物,或者显著地增加特定次生代谢产物在植物体内的含量。

水分是植物生长发育不可或缺的条件,土壤中水分含量的高低对药用植物体内的次生代谢产生影响,进而影响有效成分的含量<sup>[6-7]</sup>。酸枣叶片中次生代谢产物主要是黄酮类成分,在植物体内,黄酮类成分具有光保护、减轻紫外辐射、抗病<sup>[18]</sup>、抗氧化<sup>[19]</sup>、提高细胞内谷胱甘肽水平<sup>[20]</sup>等多种功能。另外,在植物遭受非生物胁迫时,可能通过黄酮类的合成来消耗过剩的磷酸丙糖、ATP和NADPH,从而作为植物体内能量的安全阀<sup>[21]</sup>,暂时缓解非生物胁迫对植物体造成的伤害<sup>[22]</sup>。

研究结果显示:土壤中水分供应越少酸枣叶片相对含水量越低,但同一时期对照组(适宜水分,土壤相对含水量75%)、中度干旱(土壤相对含水量55%)和重度干旱(土壤相对含水量35%)处理组间叶片相对含水量无显著差异( $P>0.05$ ),说明在土壤干旱条件下酸枣能够维持较高的叶片相对含水量。随着土壤相对含水量的降低,酸枣叶片中可溶性蛋白质含量下降,说明蛋白质合成速率下降,酸枣的初生代谢受到抑制,生长减缓。

与对照相比,中度干旱条件下酸枣叶片中总黄酮和芦丁含量分别显著和极显著增加,说明土壤干旱有利于酸枣叶片中黄酮类成分的积累,与文献[23-24]报道的研究结果相一致。在适度干旱条件下,植物的生长受到限制,大量的光合产物积累在体内,植物利

用这些“过剩”的光合产物合成含碳的次生化合物(如萜类)<sup>[25]</sup>,基于这一原因黄酮类成分的含量有所增加。植物体内的次生代谢产物一般是对外界非生物胁迫的响应,可以增强植物的抗逆性,如双吡咯烷类生物碱含量高的高羊茅(*Festuca elata* Keng ex E. Alexeev)的耐旱性强于生物碱含量低的高羊茅<sup>[26]</sup>。本实验中,对照和中度干旱处理间酸枣叶片丙二醛含量无显著差异,可能是因为随土壤相对含水量降低苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性增加,叶片中黄酮类代谢增强,导致中度干旱条件下总黄酮和芦丁含量升高,而黄酮类成分的抗氧化作用在一定程度上缓解了水分胁迫导致的膜脂过氧化作用。

酸枣叶片中芦丁含量丰富,重度干旱条件下酸枣叶片中总黄酮和芦丁含量分别显著和极显著低于中度干旱。其原因可能是:一方面重度干旱条件下芦丁发生降解;另一方面重度干旱胁迫导致光合产物和其他原料供应受限,使植物含碳次生化合物的合成受到限制,表现为总黄酮和芦丁含量显著降低。这和李霞等<sup>[27]</sup>对生物碱的研究结果相一致。

当土壤相对含水量从55%降至35%时,酸枣叶片的光合系统可能遭受破坏,光合能力以及从源器官转移同化物的能力降低,尤其在幼嫩叶片中更是如此。Suzuki等<sup>[28]</sup>的研究结果表明:在水分胁迫条件下,苦荞[*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.]叶中的芦丁降解酶活性可以在短时间内提高158%,在芦丁降解酶的作用下芦丁生成槲皮素和芸香糖。而本实验结果则显示:当土壤相对含水量从55%降至35%时,芦丁及槲皮素含量均极显著降低。在重度干旱胁迫条件下芦丁发生了降解,虽然其降解产物为芸香糖和槲皮素,但因为干旱胁迫的加剧导致了同化物产生以及转运能力降低,而芸香糖作为二糖可以提供呼吸基质,槲皮素则是愈创木酚过氧化物酶的合适底物<sup>[29-30]</sup>,可以在愈创木酚过氧化物酶的作用下进一步降解,表现为芦丁含量降低的同时槲皮素的含量也有所降低。因而,芦丁及其降解产物槲皮素在一定程度上可以缓解干旱胁迫,增强酸枣叶片对干旱胁迫的适应能力。此外,经重度干旱胁迫后复水7 d后,酸枣叶片的PAL活性和槲皮素含量与对照无显著差异,而总黄酮和芦丁含量却显著高于对照,可能与复水后的补偿效应有关,使黄酮类成分的降解得到抑制从而使其含量增加,以增强酸枣的抗旱性。

植物的次生代谢产物是植物在长期进化过程中

与环境相互作用的结果,次生代谢产物在植物提高自身保护和生存竞争能力、协调与环境的关系上充当着重要的角色,其产生和变化比初生代谢产物与环境间有更强的相关性和对应性<sup>[31-35]</sup>。因此,有必要从次生代谢角度去探讨植物适应环境的机制。但是植物体内次生代谢的途径多种多样,本实验的结果也仅能为黄酮类成分对植物适应干旱胁迫的作用研究提供一些数据。

综上所述,中度干旱胁迫条件下酸枣叶片通过增加主要黄酮类成分的含量来提高抗氧化能力,从而提高酸枣适应土壤干旱的能力;而在重度干旱条件下,酸枣叶片通过黄酮类成分的降解提供能量从而缓解干旱胁迫,以提高防御土壤干旱的能力。

#### 参考文献:

- [1] 曲泽州,王永蕙. 中国果树志:枣卷[M]. 北京:中国农业出版社,1993:1-3.
- [2] 康东东,韩利慧,马鹏飞,等. 不同地理环境下酸枣叶的形态解剖特征[J]. 林业科学,2008,44(12):135-139.
- [3] 李会军,李萍,余国奠. 酸枣的研究进展及开发前景[J]. 中国野生植物资源,1999,18(3):15-19.
- [4] 李兰芳,赵淑云,吴树勋,等. 不同生长期酸枣叶中总黄酮和芦丁的含量测定[J]. 中国中药杂志,1992,17(2):81-82.
- [5] Yousefi N, Slama I, Ghnaya T, et al. Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations [J]. Comptes Rendus Biologies, 2010, 333(3): 205-213.
- [6] 谭勇,梁宗锁,董娟娥,等. 水分胁迫对菘蓝生长发育和有效成分积累的影响[J]. 中国中药杂志,2008,33(1):19-22.
- [7] 尚辛亥,王洋,阎秀峰. 土壤水分对高山红景天生长和红景天甙含量的影响[J]. 植物生理学通讯,2003,39(4):335-336.
- [8] Shao H B, Song W Y, Chu L Y. Advances of calcium signals involved in plant anti-drought [J]. Comptes Rendus Biologies, 2008, 331(8): 587-596.
- [9] Roche J, Hewezi T, Bouniols A, et al. Real-time PCR monitoring of signal transduction related genes involved in water stress tolerance mechanism of sunflower [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(2): 139-145.
- [10] Li F L, Bao W K, Wu N. Morphological, anatomical and physiological responses of *Campylopus polyantha* (Franch.) Schindl. seedlings to progressive water stress [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 127(3): 436-443.
- [11] 苏文华,张光飞. 次生代谢产物合成与积累的诱导机制——植物药材种植中质量控制的理论基础[G]//中国中医药研究促进会. 全国中药材GAP研究与应用学术研究会会议论文集汇编. 北京:中国学术期刊电子杂志社,2004:77-79.
- [12] 阎秀峰,王洋,李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. 生态学报,2007,27(6):2554-2562.
- [13] 孙群,胡景江. 植物生理研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2006.
- [14] 宛国伟,董娟娥,梁宗锁,等. 培养条件对离体丹参根苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报,2007,27(12):2471-2477.
- [15] 董芳. 酸枣叶中黄酮类物质的抗旱生理功能研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学生命科学院,2009:22-26.
- [16] 倪细炉,谭玲玲,王玲丽,等. 不同诱导子处理对鱼腥草幼苗槲皮素含量的影响[J]. 鲁东大学学报:自然科学版,2008,24(3):254-259.
- [17] 苏文华,张光飞,李秀华,等. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系[J]. 中草药,2005,36(9):1415-1418.
- [18] Harborne J B, Williams C A. Advances in flavonoid research since 1992 [J]. Phytochemistry, 2000, 55(6): 481-504.
- [19] Kostyuk V A, Potapovich A I, Strigunova E N, et al. Experimental evidence that flavonoid metal complexes may act as mimics of superoxide dismutase [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2004, 428(2): 204-208.
- [20] Myhrstad M C, Carlsen H, Nordström O, et al. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2002, 32(5): 386-393.
- [21] Hernández I, van Breusegem F. Opinion on the possible role of flavonoids as energy escape valves: novel tools for nature's Swiss army knife? [J]. Plant Science, 2010, 179(4): 297-301.
- [22] Kováčik J, Klejduš B, Bačkor M, et al. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes [J]. Plant Science, 2007, 172(2): 393-399.
- [23] Liu H Y, Wang X D, Wang D H, et al. Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. Industrial Crops and Products, 2011, 33(1): 84-88.
- [24] Jaleel C A, Manivannan P, Kishorekumar A, et al. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 59(2): 150-157.
- [25] Turtola S, Manninen A M, Rikala R, et al. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings [J]. Journal of Chemical Ecology, 2003, 29(9): 1981-1995.
- [26] 周芳,高玉葆. 内生真菌-禾草共生体内生物碱的种类及其生理生态作用[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(6):669-673.
- [27] 李霞,王洋,阎秀峰. 水分胁迫对黄檗幼苗三种生物碱含量的影响[J]. 生态学报,2007,27(1):58-64.
- [28] Suzuki T, Honda Y, Mukasa Y. Effects of UV-B radiation, cold and desiccation stress on rutin concentration and rutin glucosidase activity in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) leaves [J].

- Plant Science, 2005, 168(5): 1303-1307.
- [29] Amako K, Chen G X, Asada K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants[J]. Plant and Cell Physiology, 1994, 35(3): 497-504.
- [30] Yamasaki H, Sakihama Y, Ikehara N. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>[J]. Plant Physiology, 1997, 115(4): 1405-1412.
- [31] Sun M Y, Gu X D, Fu H W, et al. Change of secondary metabolites in leaves of *Ginkgo biloba* L. in response to UV-B induction[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11(4): 672-676.
- [32] Shin Y, Liu R H, Nock J F, et al. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry [J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 45(3): 349-357.
- [33] Solar A, Colarič M, Usenik V, et al. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.)[J]. Plant Science, 2006, 170(3): 453-461.
- [34] Agrawal A A. Macroevolution of plant defense strategies [J]. Trends in Ecology and Evolution, 2007, 22(2): 103-109.
- [35] 顾永华, 冯 煦, 夏 冰. 水分胁迫对茅苍术根茎生长及挥发油含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 23-27.

(责任编辑: 张明霞)

## 欢迎订阅 2012 年《生态与农村环境学报》

《生态与农村环境学报》系国家环境保护部主管、国家环境保护部南京环境科学研究所主办的学术期刊,为中文核心期刊(GCJC)、中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊、中国学术期刊评价研究报告(RCCSE)核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),被中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中文社会科学引文索引(CSSCI)、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)、中国期刊全文数据库(CJFD)、中国核心期刊(遴选)数据库、CA、CABI、BA、BP、BD、UPD、GeoBase、ZR、EM、Scopus、AGRIS、中国农业文摘、中国生物学文摘等国内外重要刊库收录,系全国优秀环境科技期刊、江苏省优秀期刊以及中国期刊协会赠建全国百家期刊阅览室指定赠送期刊。

本刊宗旨:及时报道生态与农村环境保护领域的研究动态、理论、方法与成果等。主要栏目:研究报告、研究简报、研究方法、专论与综述、学术讨论与建议等。主要内容:1)区域环境与发展,包括生态环境变化与全球环境影响、区域生态环境风险评价、环境规划与管理、区域生态经济与生态安全等;2)自然保护与生态,包括自然资源保护与利用,生物多样性与外来物种入侵,转基因生物环境安全与监控,生态保护、生态工程与生态修复,有机农业与农业生态等;3)污染控制与修复,包括污染控制原理与技术、土壤污染与修复、水环境污染与修复、农业废物综合利用与资源化、农用化学品(以及化学品)风险评价与监控等。主要读者对象:从事生态学、环境科学、农学、林学、地学、资源科学等研究、教学、生产的科技人员,相关专业的高等院校师生以及各级决策与管理人。

本刊为双月刊,单月25日出版,A4开本。每期定价15.00元,全年定价90.00元,公开发行。国内邮发代号28-114,全国各地邮局均可订阅;国外由中国国际图书贸易总公司(北京399信箱)负责发行,国外发行代号Q5688。如漏订,可向本刊编辑部补订。编辑部地址:江苏省南京市蒋王庙街8号(邮政编码210042);电话:(025)85287036,(025)85287052,(025)85287053;E-mail:ere@vip.163.com,bjb@nies.org;网址:http://www.ere.ac.cn。

欢迎订阅及投稿!