

文章编号:1001-4810(2011)01-0066-06

## 桂西北岩溶地区古树脯氨酸含量的比较分析

覃勇荣, 谭静, 刘旭辉, 叶美凤, 潘振兴

(河池学院化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

**摘要:**岩溶地区具有不同于土山丘陵区特殊生境,生长在该地区的植物具有不同的生理生态特征。采集不同树龄的樟树、大叶榕、小叶榕、桂花、重阳木、枫香、龙眼等桂西北岩溶地区常见树种的叶片,用磺基水杨酸提取-茚三酮显色法测定叶片中的脯氨酸含量。通过不同样品脯氨酸含量的比较分析,探讨脯氨酸含量与树龄、树木生存状况及其它生态因子的相关性,以便为古树生物学保护提供科学依据。结果表明:不同树种叶片的脯氨酸含量不同,不同树龄的同一树种叶片中的脯氨酸含量有差异。随着树龄的增长,叶片中的脯氨酸含量有波动,且老叶和新叶(嫩叶)的脯氨酸含量变化规律基本一致,通常表现为先升后降。叶片中的脯氨酸含量可以作为古树保护的参考指标。

**关键词:**桂西北;岩溶地区;古树;脯氨酸

**中图分类号:**Q946.81<sup>+</sup>9; Q948.15<sup>+</sup>6

**文献标识码:**A

### 0 引言

古树是活着的文物和珍贵的自然遗产,对研究植物进化和古气候地理变化具有重要的学术价值。西南岩溶地区是我国生物多样性最丰富的地区之一<sup>[1]</sup>,有许多特有的植物类群,也保留了许多珍稀的古树资源。以往对古树的研究多集中在资源调查、保护策略分析、衰老特征及复壮技术、环境污染危害等方面<sup>[2-7]</sup>,并且许多研究都是定性和描述研究的多,定量和实证研究的少;从人文的角度研究居多,从植物生理生态和生化的角度研究偏少。桂西北地处我国云贵高原的边缘,特殊的岩溶地质背景,使生活在该地区的植物类群(古树)具有不同于其它地区植物类群的适应性特征,因此,对其生理生态开展深入的调查研究,可以为岩溶地区生态环境保护和植物资源开发利用提供重要的依据。

脯氨酸(proline)是一种小分子的渗透物质,是水溶性最大的氨基酸,在植物的生命活动中具有独特的作用<sup>[8]</sup>。研究表明:植物处于逆境时,其体内的游离

脯氨酸会大量积累<sup>[9]</sup>,因此,脯氨酸含量通常被作为植物抗逆性的评价指标<sup>[10]</sup>。以往对脯氨酸的研究大多集中在环境胁迫对植物体内脯氨酸含量的影响、植物抗性品种选育、脯氨酸生物合成及降解途径等方面<sup>[11-15]</sup>,而对古树中脯氨酸含量的相关研究报道甚少。为此,笔者试图通过对桂西北岩溶地区常见树种叶片中脯氨酸含量的比较分析,了解不同树种脯氨酸含量与树龄及树木生长状况的关系,探讨以脯氨酸含量作为古树生存状况及生命活力评价指标的可行性,以便为古树生物学保护提供科学的监测数据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

桂西北岩溶地区不同树龄的樟树(*Cinnamomum camphora*)、大叶榕(*Ficus virens* Ait. var. *sublanceolata*)、小叶榕(*Ficus microcarpa* var. *pusillifolia*)等常见树种的新鲜叶片。

#### 1.2 方法

基金项目:广西高校重点实验室(桂教科研[2010]6号)、河池学院科研课题(2007A-N002)

第一作者简介:覃勇荣(1963-),男,硕士,教授,主要从事桂西北岩溶地区资源调查及生态恢复研究。E-mail:hcxyqyr@126.com。

收稿日期:2010-08-27

1.2.1 样品采集及处理

2009 年 3 月至 2010 年 4 月,分别在桂西北地区的宜州、环江、罗城、天峨及金城江等地采集不同树龄的樟树、大叶榕、小叶榕、桂花 (*Osmanthus fragrans*)、重阳木 (*Bischofia polycarpa*)、枫香 (*Liquidambar formosana*)、龙眼 (*Dimocarpus longan*) 等树种的新鲜叶片。每一树龄尽量选择 3 株以上相同或相似环境背景的同种植物的不同个体进行平行采样。采样时,要选择每一植株的向阳面进行,同时采集同一植株的老叶(成熟叶片)和新叶(当年生枝条上长出的第一节位的嫩叶)。叶片采下后,将其置于冰壶中,尽快带回实验室,用蒸馏水洗涤干净,沥干水分,放入塑料封口袋中封装(注意勿使叶片受伤),做好相应的记录及标记后,置-4℃的冰箱中暂存。为了减少低温处理对测试结果的影响,应尽快(最好在 1d 之内)对采集的样品进行脯氨酸含量测定。

1.2.2 主要仪器和试剂

UV-1800 紫外可见分光光度计(上海:岛津国际贸易有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);电冰箱(容声 BCD-233MA)。

脯氨酸(中国药品生物制品鉴定所,对照品)标准溶液  $1.74 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;茚三酮(国药集团化学试剂有限公司);甲苯(汕头市西陇化工厂有限公司);磺基水杨酸(天津市博迪化工有限公司);冰醋酸(广东汕头市陇西化工厂)。

1.2.3 样品测定及数据处理

脯氨酸含量的测定用磺基水杨酸提取-茚三酮显色法<sup>[16]</sup>。树龄数据主要通过交叉定年法测定,由当地园林管理部门提供;部分数据为实地调查或文献资料调查所得。每个样品均做三个平行测定,取平均值。数据处理用 Excel2003 和 SPSS16.0 进行。

2 结果与分析

脯氨酸含量的测定结果见图 1-9。由图 1-7 可知,不同树种叶片中的脯氨酸含量有差异,其数值大小不仅与树种有关,而且与树龄、叶片成熟度(老叶或嫩叶)以及其它环境因子有一定的关系,下面逐一对其进行简要分析。

2.1 树龄对叶片脯氨酸含量的影响

为了说明树木生长年龄对其叶片脯氨酸含量的影响,笔者对相同树种、不同树龄的叶片的脯氨酸含量进行了比较分析,结果发现:树叶中的脯氨酸含量与树龄并非线性关系;在树木生长过程中,随着树龄的增大,叶片中的脯氨酸含量会出现一定的波动和变

化,波动的周期及波幅大小可能因树种而异;从总的变化趋势来看,当树木达到某一较老的年龄(尤其是高龄树种),特别是长期受到不良环境因子的影响,或者因故受损衰老之后,其叶片中的脯氨酸含量往往会明显下降(详见图 1-7)。由于植物体内的脯氨酸含量与环境胁迫有一定的相关性<sup>[17,18]</sup>,所以,从脯氨酸含量的变化,可以判断树木对环境的适应能力及生存状况。通过对不同树种脯氨酸含量的比较分析,可以为古树保护提供一些科学依据。

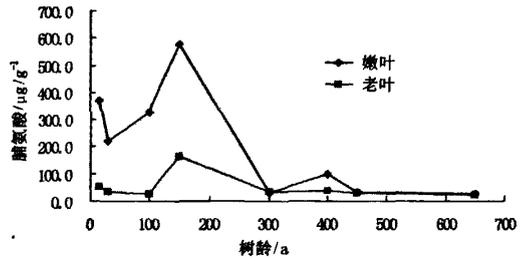


图 1 不同树龄的樟树叶片脯氨酸含量  
Fig. 1 Proline content in *C. camphora* leaves in different tree-ages

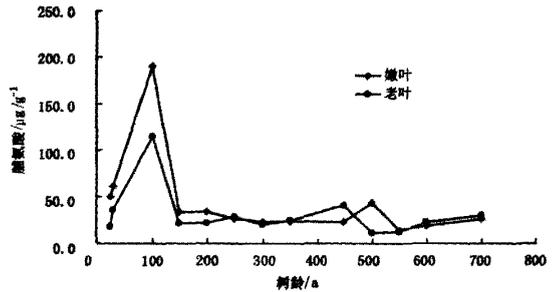


图 2 不同树龄的大叶榕叶片脯氨酸含量  
Fig. 2 Proline content in *F. virens* Ait. var. *sublancoolata* leaves in different tree-ages

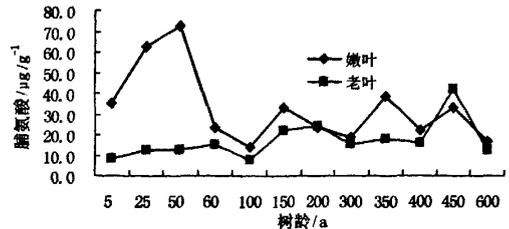


图 3 不同树龄的小叶榕叶片脯氨酸含量  
Fig. 3 Proline content in *F. microcarpa* var. *pusillifolia* leaves in different tree-ages

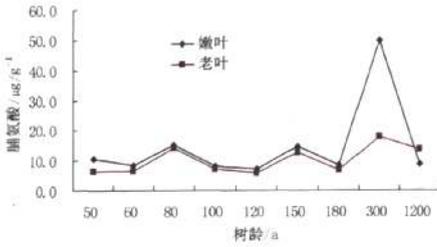


图4 不同树龄的桂花叶片脯氨酸含量  
Fig. 4 Proline content in *O. fragrans* leaves in different tree-ages

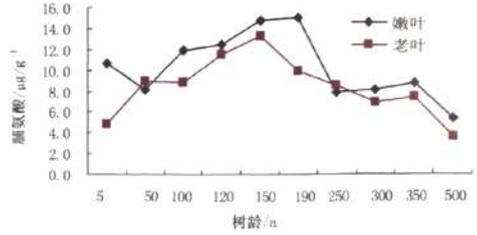


图5 不同树龄的重阳木叶片脯氨酸含量  
Fig. 5 Proline content in *B. polycarpa* leaves in different tree-ages

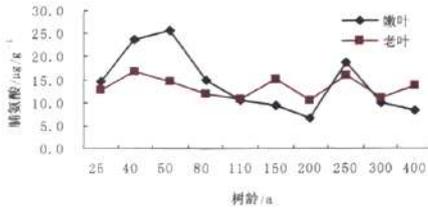


图6 不同树龄的枫香叶片脯氨酸含量  
Fig. 6 Proline content in *L. formosana* leaves in different tree-ages

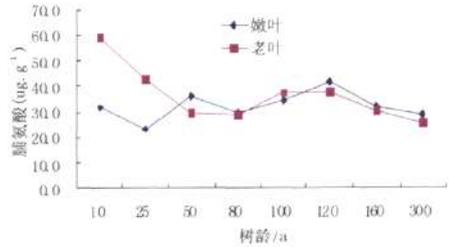


图7 不同树龄的龙眼叶片脯氨酸含量  
Fig. 7 Proline content in *D. longan* leaves in different tree-ages

2.2 叶片成熟度对叶片脯氨酸含量的影响

在所研究的7种不同树种中,叶片中的脯氨酸含量大多为嫩叶>老叶,部分树种嫩叶与成熟叶片(老叶)的脯氨酸含量差异比较显著(见图1-7)。这说明植物体内(叶片)的脯氨酸含量与其代谢水平有关,生命活动比较活跃、代谢水平较高的部位(嫩叶),其脯氨酸含量通常比代谢水平较低的部位(成熟叶片或老叶)稍高;植物体的幼嫩器官更容易受到环境因子的影响,其对环境刺激的应激反应更为迅速和强烈。

2.3 树种对叶片脯氨酸含量的影响

为了说明树种对其叶片中脯氨酸含量的影响,笔者随机对相同树龄、不同树种的样品(叶片)的脯氨酸含量进行比较分析。结果发现,不同树种叶片中的脯氨酸含量差别很大,其中,樟树、大叶榕等树种叶片中的脯氨酸含量相对较高,而枫香、重阳木等树种叶片中的脯氨酸含量相对较低(见图8,图9)。一方面,这可能与不同树种的生物学特性差异有关。樟树、大叶榕、小叶榕均为桂西北岩溶地区的乡土树种,生长速

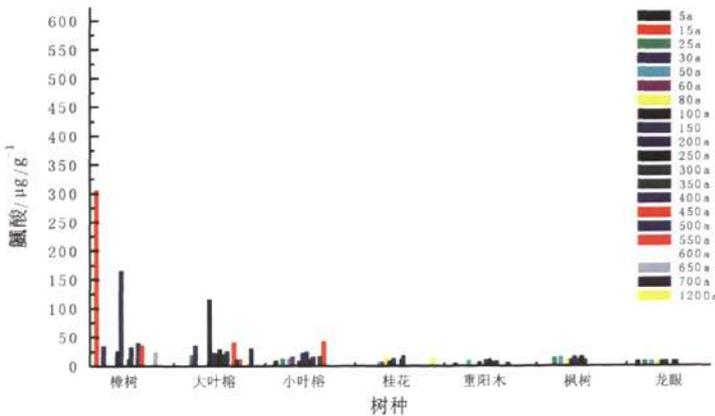


图8 不同树种成熟叶片脯氨酸含量的比较  
Fig. 8 Comparison of proline content in mature leaves of different tree species

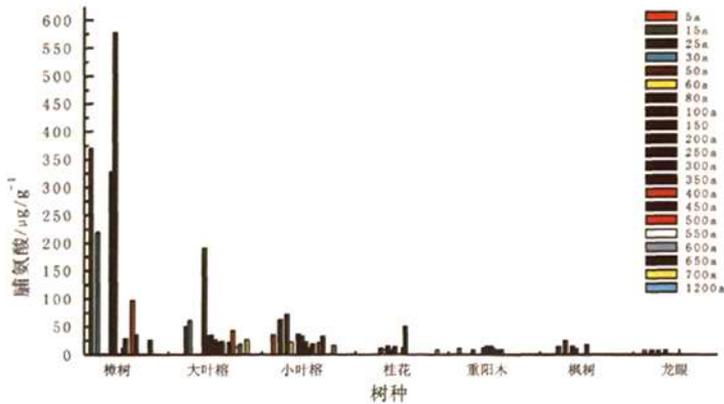


图9 不同树种幼嫩叶片脯氨酸含量的比较

Fig. 9 Comparison of proline content in the young leaves in different tree species

度快,生命力旺盛,对环境具有极强的适应能力,可以在极为贫瘠和恶劣的环境中生存,其生长期和寿命也比较长;另一方面,由于木本植物的生长周期通常都比较长,在其生命周期中,可能有多个不同的生长高峰期。通常情况下,生长高峰期也是植物体内代谢最旺盛的时期,此时植物对外界刺激最敏感,反应也最强烈。不同植物的生长曲线不同,有些树种的树龄虽小却很快出现生长高峰,而另一些树种树龄虽大却迟迟没有出现生长高峰。因此,不同树种体内代谢和生理调节机制可能是不一样的,这就有可能出现部分植物在环境的胁迫下脯氨酸含量的差异,具体原因有待进一步研究。

#### 2.4 生境对叶片脯氨酸含量的影响

植物体内的脯氨酸含量受多种环境因子的影响。本研究所有植物样品均采自桂西北岩溶地区,特殊的地质背景容易使生长在该地区的植物经常遇到水分(干旱)胁迫,而在一定的强度范围内,经受过干旱胁迫的植物,其叶片中的脯氨酸含量可能比未遭受水分胁迫的植物叶片中的脯氨酸含量高。尽管桂西北地区植物生长的气候地理背景大致相同,但是,每一个体(植株)的小生境还是有一定的差异的,所以,即使是相同树龄的同一种树种,其叶片中的脯氨酸含量也表现出一定的环境差异性。

### 3 讨论

岩溶地区具有不同于土山丘陵区特殊生境,其主要特点是:具有特殊的地上、地下二元空间结构,昼夜温差大(夏季岩石表面温度最高可达60~

70℃)<sup>[19]</sup>,土层瘠薄,地表渗漏非常严重,即使是降雨充沛的季节,也面临环境干旱问题。因此,生在岩溶地区的植物常常受到高温、干旱等不良环境因子的胁迫。特殊的生境造就了不同的植物类群,从而使岩溶植物通常都具有喜钙、耐旱、耐贫瘠、石生(根系发达、穿透力强)等特点,其形态结构和生理生态上也发生了相应的改变,形成了一系列适应岩溶环境的特征<sup>[20~22]</sup>。

脯氨酸含量作为植物抗性生理的重要评价指标之一,其与寒、旱、高温、盐碱、酸雨及重金属污染等不良环境因子胁迫的相关研究已有大量文献报道,一些研究者认为,植物体内的脯氨酸含量与非生物因子胁迫的强度成正相关,在环境胁迫下,脯氨酸含量的变化反映了植物抵御不良影响的能力差异,因而,通过植物体内脯氨酸含量差异的比较分析,可以筛选出抗性强的物种<sup>[23,24]</sup>;而另一些研究者的观点则相反,他们认为脯氨酸是植物遭受不良环境胁迫的产物,是植物受胁迫的结果,与植物的抗性并没有多大的关系<sup>[25,26]</sup>。从本研究的结果来看,有几个问题值得注意:①脯氨酸含量与树龄并非负相关,一些老树叶片的脯氨酸含量可能比一些低龄的相同树种叶片中的脯氨酸含量高,因此,植物体内的脯氨酸含量只能说明其即时的生存状况,表征其生命活力的强弱,而不能作为推测树龄大小的主要依据。②对不同树种及不同树龄样本脯氨酸含量的比较分析中发现,幼龄及高龄树体(不同树种的具体年龄不同)叶片中的脯氨酸含量均比较低,也就是说,此时树体对环境胁迫的响应能力比较差,应加以特别的管护。③在树木自然生长过程中,叶片中的脯氨酸含量在某一树龄

(大叶榕 100a, 樟树 150a, 桂花 300a)会出现明显的波动,这是否标志着树木机能的下降还有待进一步分析,但此时应加强园艺措施,以防止树木过早衰老。④能否建立一个古树保护的监测平台(多媒体数据库),通过对不同树种(古树)脯氨酸含量等大量测定数据的统计分析,找出影响树木生理变化的关键因子和阈值,以便更有效地对生存受到威胁的树种(古树)进行保护,这是一个很有意义的课题。⑤从同一植株老叶和嫩叶脯氨酸含量的测定结果来看,后者通常比前者高,并且不同树龄之间的差异也比较显著,但嫩叶的采集往往会受季节的限制,因此,利用成熟叶片进行测定更具有可操作性。⑥对古树体内脯氨酸含量的比较分析,最好能结合土壤背景分析进行,这样可能更有利于说明影响其脯氨酸含量变化的原因。

本研究的样品全部采自桂西北岩溶地区,由于条件所限,目前还没有系统采集到必要数量的非岩溶地区古树新鲜叶片的样品,同时,关于古树脯氨酸含量的系统研究报道甚少,因此,笔者尚不能将不同地质背景(岩溶区与非岩溶区)相应树龄和树种的古树脯氨酸含量进行系统的对比分析,以便找出它们相互之间的差异和变化规律,这有待今后的工作进一步完善。

#### 4 结论

通过对相关实验数据的讨论分析,可以初步得到以下结论:①植物体内的脯氨酸含量受多种因素影响,不同树种的脯氨酸含量及变化规律不同。②脯氨酸含量与树龄有关,但不一定呈线性关系,因此不能将其作为推断树龄的主要依据。③脯氨酸含量可以作为古树生存活力的监测指标,尤其是脯氨酸含量急剧下降时,应特别加强防护,及时采取相应的保护措施。

#### 参考文献

- [1] 韩冰,欧阳志云,徐卫华,等.我国西南地区物种多样性保护效果[J].生态学报,2008,28(9):4589-4593.
- [2] 何学元.论云南名木古树的保护价值[J].林业调查规划,2004,29(1):73-75.
- [3] 黄志平.广西古树名木资源现状及保护管理对策[J].林业调查规划 2005,30(5):112-115.
- [4] 莫栋材,卢树洁,梁丽华,等.广州古树名木养护复壮技术研究[J].1995,(4):17,19-25.
- [5] 徐德嘉.古树名木衰败原因调查分析(古树名木复壮研究系列报

- 告之二)[J].苏州城建环保学院学报,1995,8(4):1-5.
- [6] 徐德嘉,徐向扬.土壤管理对古树名木复壮的研究(古树名木复壮研究系列报告之三)[J].苏州城建环保学院学报,1996,9(4):1-6.
- [7] 袁东升,钱妙芬.环境污染对成都市古树名木的危害及防治对策研究[J].成都信息工程学院学报,2005,20(3):336-340.
- [8] 朱虹,祖元刚,王文杰.逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响[J].东北林业大学学报,2009,37(4):86-89.
- [9] 蔡健,兰伟.大白菜叶游离脯氨酸含量变化的研究[J].安徽农业科学,2006,34(12):2638-2641.
- [10] 职明星,李秀菊.脯氨酸测定方法的改进[J].河南科技学院学报(自然科学版)2005,33(4):10-12.
- [11] 全先庆,张渝洁,单雷,等.脯氨酸在植物生长和非生物胁迫耐受中的作用[J].生物技术通讯,2007,18(1):159-163.
- [12] 张成军,解恒才,郭佳秋,等.干旱对4种木本植物幼苗脯氨酸含量的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2005,29(5):33-36.
- [13] 全先庆,张渝洁,单雷,等.高等植物脯氨酸代谢研究进展[J].生物技术通报,2007,(1):14-18.
- [14] 赵瑞雪,朱惠森,程钰宏,等.植物脯氨酸及其合成酶研究进展[J].草业科学,2008,25(2):90-96.
- [15] 孙瑞莲,王文兴,周启星,等.球果樟菜脯氨酸的积累与Cd耐性的关系[J].中国环境科学,2009,29(2):142-146.
- [16] 张殿息,汪沛洪,赵会贤.测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J].植物生理学通讯,1990,(4):62-65.
- [17] 张义贤,张丽萍.重金属对大麦幼苗膜脂过氧化及脯氨酸和可溶性糖含量的影响[J].农业环境科学学报,2006,25(4):857-860.
- [18] 袁有波,李继新,丁福章,等.干旱胁迫对烤烟叶片脯氨酸和可溶性蛋白质含量的影响[J].安徽农业科学,2008,36(21):8891-8892.
- [19] 王晓英,黄玉清,王冬梅,等.青檀光合作用和荧光特性对岩溶区不同生境的响应[J].林业科学研究,2009,22(4):475-481.
- [20] 苏维词.喀斯特区域生态系统多样性刍议[J].中国岩溶,1996,15(3):217-223.
- [21] 周蓓,李艳娜,陈忠.生物多样性对岩溶地区生态保护、恢复及重建的意义[J].山地农业生物学报,2003,22(3):248-252.
- [22] 吴耿,果茂腾,刘建民,等.广西弄拉几种适生药材叶片对岩溶环境的生态适应[J].现代生物医学进展,2008,8(2):341-345.
- [23] 杜忠,任瑶,陶玲.不同污染区对绿化树种游离脯氨酸含量的影响[J].上海环境科学,2008,27(1):25-28.
- [24] 陶玲,任瑶,杜忠,等.兰州市大气污染对植物中游离脯氨酸含量的影响[J].环境化学,2008,27(4):499-502.
- [25] Mofteh A E, Michel B E. The effect of sodium chloride on solute potential and proline accumulation in soybean leaves [J]. Physiol Plant, 1987,83:238-240.
- [26] Hanson A D, Nelson C E, Pedersen A R, et al. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought resistance [J]. Crop Sci, 1979,19:489-493.

