

不同盐度条件下秋茄根系单宁含量动态变化

田宏珍, 林益明*, 向平, 吴彪, 黄舒静, 刘晓伟, 张惠

(厦门大学生命科学学院生物学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 对不同盐度 (0‰ - 40‰) 栽培下秋茄根的总酚、可溶性缩合单宁、结合缩合单宁、总缩合单宁的含量进行测定, 探讨盐度对单宁生产的效应。结果表明: (1) 不同盐度下栽培 60 - 135 d, 总酚含量在相同盐度条件下随栽培时间的延长呈现出先波动而后升高的趋势, 其中总酚最高含量出现在高盐度, 说明一定的高盐度胁迫可以促进总酚的合成; 总缩合单宁与可溶性缩合单宁含量变化趋势相似, 其中可溶性缩合单宁含量显著高于结合缩合单宁。 (2) 在 15‰ 盐度下栽培 75 - 135 d, 秋茄根不同部位的总酚、可溶性缩合单宁、结合缩合单宁和总缩合单宁含量有相似的变化趋势, 即由根尖往远离根尖的部位呈下降趋势。

关键词: 红树林; 秋茄; 根; 盐度; 单宁

中图分类号: Q946.84

文献标识码: A

文章编号: 1671-5470 (2007) 01-0006-06

Tannin dynamics of *Kandelia candel* roots in different salinity culture

TIAN Hong-zhen, LIN Yiming, XIANG Ping, WU Biao, HUANG Shu-jing, LIU Xiao-wei, ZHANG Hui

(Department of Biology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: Total phenolics (TP), extractable condensed tannins (ECT), bound condensed tannins (BCT), and total condensed tannins (TCT) contents of *Kandelia candel* roots in different salinity culture were determined. In addition, the effect of salinity on tannin production was studied. The results showed as follows: (1) During the period of different salinity culture (from 60 d to 135 d), TP content fluctuated with increasing salinity, with the highest occurring in high salinity. ECT and TCT contents fluctuated under different salinity conditions with a consistent pattern. ECT contents were significantly higher than BCT contents. (2) At culture salinity of 15‰, the distribution of tannins in different parts of roots in the same period from 75 d to 135 d followed the identical pattern: the closer the root tip was, the higher the TP, ECT, BCT, and TCT contents were.

Key words: mangrove; *Kandelia candel*; root; salinity; tannin

植物单宁 (vegetable tannin) 又称植物多酚 (plant polyphenol), 是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物, 在维管束植物中的含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素, 主要存在于植物的皮、根、叶、果中, 含量可达 20% 以上^[1-3]。单宁在维管束植物中根据结构的不同可分为水解单宁和缩合单宁^[4]。

红树林是分布在热带亚热带海岸潮间带的木本植物群落。单宁对红树植物具有重要的生态适应意义^[5-6]。在红树林海滩, 低潮带的盐度可达 20‰ - 35‰, 即使在高潮带, 一般盐度也有 5‰ - 15‰。红树林采取拒盐性、泌盐性和聚盐性 3 种机制适应高盐度环境, 其中聚盐性抗盐机制是最重要的机制^[6-7]。目前红树植物抗盐生理生态学的研究主要集中在盐度对红树植物生长发育、光合作用、离子浓度、能量动态等方面的影响^[8], 而盐度对单宁生产的效应至今尚未见报道。

因此, 本试验研究盐度对红树植物秋茄根单宁生产的效应, 进一步探讨红树植物单宁生产与生态环境的关系, 不仅对充实我国红树林生态理论、推动发展红树植物单宁动态方面的研究有积极意义, 而且也为今后大量发展红树林、人工栽培繁殖红树植物等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2005 年 5 月, 成熟的秋茄胚轴采自福建九龙江口红树林自然保护区 (24°24' N, 117°55' E)。培养于套

收稿日期: 2006 - 11 - 02 修回日期: 2007 - 01 - 12

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (B0410006); 国家自然科学基金资助项目 (40376026)。

作者简介: 田宏珍 (1976 -), 女, 研究方向: 植物生理生态。

*通讯作者: 林益明 (1967 -), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 植物生理生态。Email: linyim@xmu.edu.cn

有塑料盆的塑料网筐的沙基中,秋茄培养每盆 5000 g,盆口径 35 cm,高 15 cm,每盆种胚轴 10 根,浇以不同盐度的海水,分别为 0‰、5‰、10‰、15‰、20‰、25‰、30‰、35‰、40‰,每盆培养液 2500 mL。每个盐度 3 次重复。取海水,测定后用自来水冲稀或加盐调配至上述盐浓度。自然光下培养,每天加自来水补充耗去的水量。每隔 15 d 更换一次培养液,培养 135 d。

1.2 试验设计

按照上述 9 个盐度梯度栽培秋茄,于第 60 天开始每隔 15 d (第 2 对真叶开始长出时) 分别测定不同盐度下秋茄根总酚、可溶性缩合单宁、结合缩合单宁、总缩合单宁的含量,累计测定 6 次;于第 75 天开始每隔 30 d 取 15% 盐度栽培的根,由根尖往上以 4 cm 为间隔逐次分级,分别标定为 、 、 、 ,分别测定各部分的总酚、可溶性缩合单宁、结合缩合单宁、总缩合单宁的含量,累计测定 3 次。

1.3 分析方法

总酚含量用普鲁士蓝法^[9]测定;可溶性缩合单宁、结合缩合单宁含量用正丁醇—盐酸法^[10]测定;总酚、可溶性缩合单宁、结合缩合单宁均以纯化的秋茄叶单宁为标准物。其中总缩合单宁含量 (TCT) 为可溶性缩合单宁 (ECT) 与结合缩合单宁 (BCT) 之和^[3,10]。各种单宁含量都以干重含量 (DW) 表示。

数据统计分析采用 SPSS for Windows 11.0, 多组间比较用单因素方差分析^[11]。

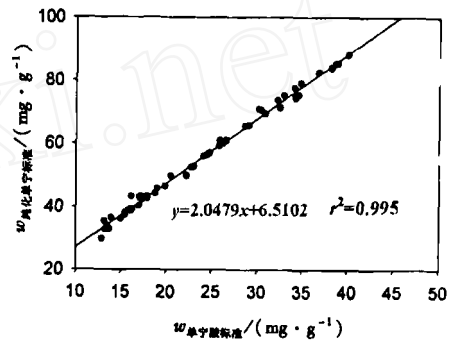


图 1 秋茄根以单宁酸为标准 (X 轴) 和以纯化单宁为标准 (Y 轴) 的总酚含量相关

Fig 1 Relationship between total phenolics contents in the roots of *K. candel* for two standards: tannic acid (horizontal axis) and purified tannins (vertical axis)

2 结果

2.1 不同盐度培养下秋茄幼苗根总酚含量的变化

秋茄根以单宁酸为标准 and 以纯化单宁为标准的总酚含量具有显著的相关性 (图 1), 以纯化单宁为标准的总酚含量大约是以单宁酸为标准的总酚含量的 2 倍。

从图 2 可以看出,栽培 60 - 90 d, 不同盐度下秋茄根的总酚含量在 $(29.78 \pm 1.27) - (60.07 \pm 13.37) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 基本在 $40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右; 而 105 - 135 d, 不同盐度下秋茄根的总酚含量在 $(52.48 \pm 9.27) - (100.84 \pm 0.26) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 比 60 - 90 d 的根总酚含量有明显提高。在 60 - 135 d 期间, 根的总酚含量基本上在盐度 30‰、35‰ 时较高。

2.2 秋茄幼苗在不同盐度培养下根缩合单宁含量的变化

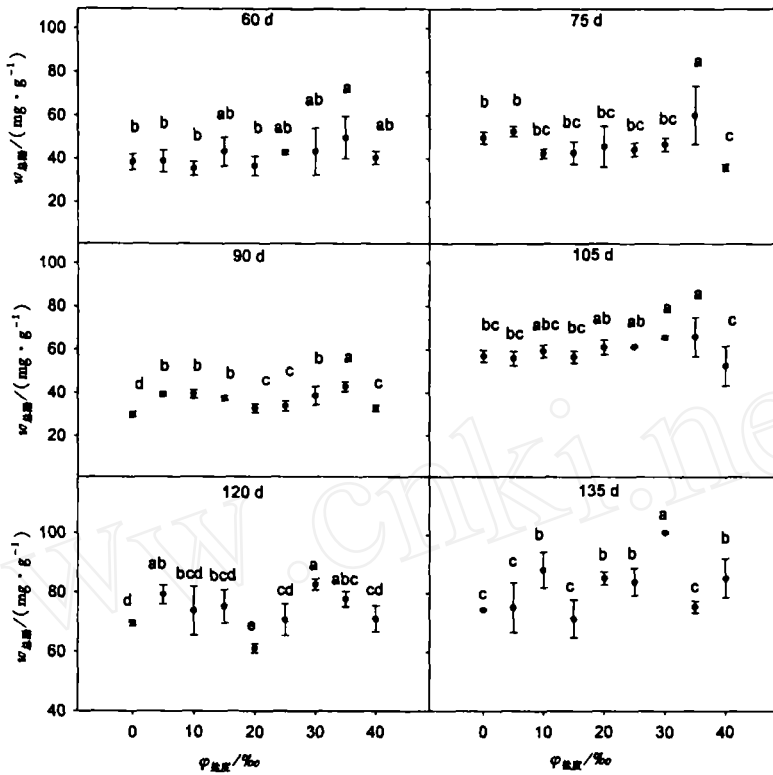
从可溶性缩合单宁含量可见 (图 3), 不同盐度下栽培 60 - 135 d, 秋茄根可溶性缩合单宁含量在 $(9.51 \pm 1.89) - (35.36 \pm 8.63) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 总体波动趋势较为平缓。如 60 - 75 d, 不同盐度下可溶性缩合单宁含量无显著差异。栽培 120 d, 不同盐度下秋茄根可溶性缩合单宁含量相对高些 [$(24.36 \pm 1.62) - (35.36 \pm 8.63) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$]。

不同盐度下秋茄根的结合缩合单宁含量 (图 4) 明显低于可溶性缩合单宁含量 (图 3)。不同盐度下秋茄根结合缩合单宁含量在 $(0.38 \pm 0.07) - (3.11 \pm 1.08) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 变化的规律性不甚明显。

总缩合单宁含量为可溶性缩合单宁和结合缩合单宁含量之和。由于可溶性缩合单宁显著高于结合缩合单宁含量, 所以总缩合单宁含量与可溶性缩合单宁含量在不同盐度培养下的变化趋势相似。栽培 120 d, 不同盐度下秋茄根总缩合单宁含量在 $(26.94 \pm 1.58) - (37.58 \pm 8.70) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间波动, 其中 35‰ 盐度下总缩合单宁含量最高; 栽培 135 d, 不同盐度下秋茄根总缩合单宁含量在 $(17.73 \pm 1.50) - (29.59 \pm 4.24) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间波动, 其中 30‰ 盐度下总缩合单宁含量最高 (图 5)。

2.3 在 15% 盐度栽培下不同部位秋茄幼苗根的总酚含量变化

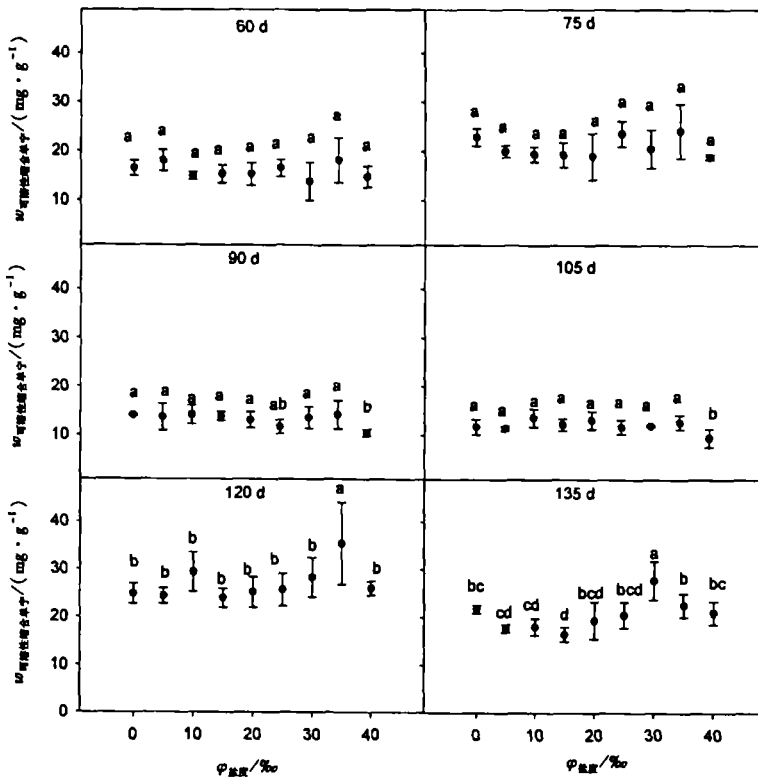
栽培 75 - 135 d, 不同部位秋茄根总酚含量随着远离根尖呈明显的下降趋势 (图 6)。根尖的总酚含量分别为 (92.69 ± 12.1) 、 (97.93 ± 0.58) 、 $(116.24 \pm 8.63) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 而离根尖最远的区, 总酚分别为 (39.43 ± 1.24) 、 (50.19 ± 4.07) 、 $(66.63 \pm 2.51) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。



不同字母表示差异达0.05 显著水平.

图 2 不同盐度栽培下秋茄根总酚含量

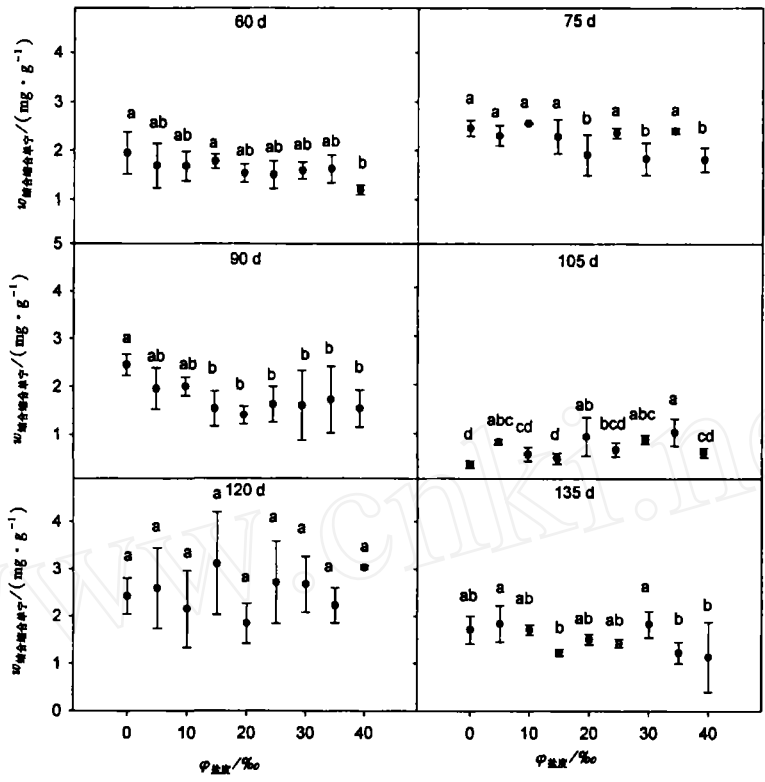
Fig. 2 Total phenolics (TP) content of *K. candel* roots in different salinity culture



不同字母表示差异达0.05 显著水平.

图 3 不同盐度栽培下秋茄根可溶性缩合单宁含量

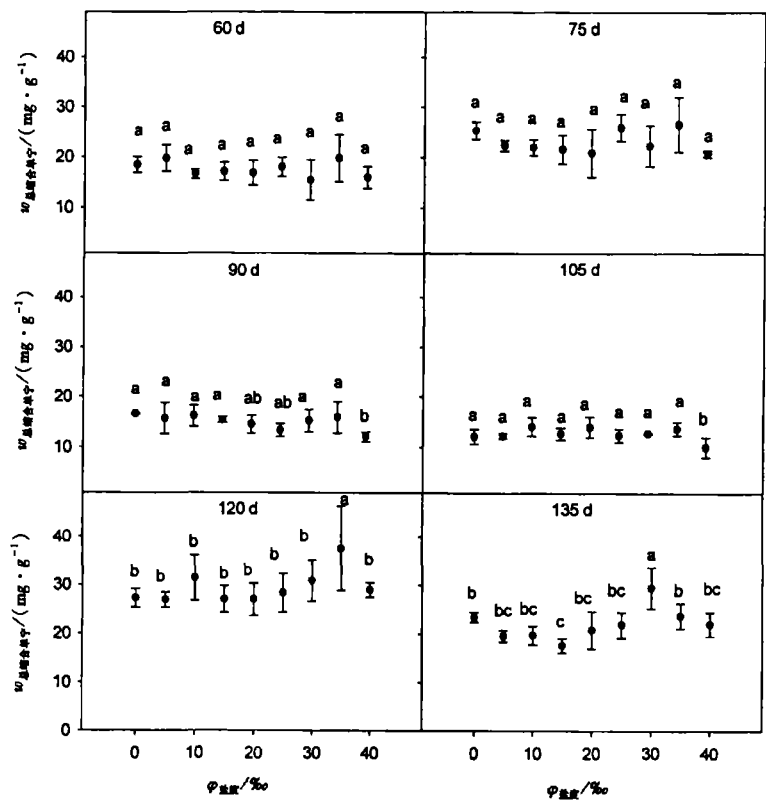
Fig. 3 Extractable condensed tannin (ECT) content of *K. candel* roots in different salinity culture



不同字母表示差异达 0.05 显著水平.

图 4 不同盐度栽培下秋茄根结合缩合单宁含量

Fig. 4 Bound condensed tannin (BCT) content of *K. candel* roots in different salinity culture



不同字母表示差异达 0.05 显著水平.

图 5 不同盐度栽培下秋茄根总缩合单宁含量

Fig. 5 Total condensed tannin (TCT) content of *K. candel* roots in different salinity culture

2.4 在 15% 盐度栽培下秋茄幼苗根不同部位的缩合单宁含量变化

从图 7 可见,栽培 75 d,不同部位秋茄根可溶性缩合单宁含量随着远离根尖呈明显的下降趋势 [(45.77 ± 8.64) - (19.53 ± 1.22) mg · g⁻¹];栽培 105 d,不同部位秋茄根可溶性缩合单宁含量随着远离根尖呈明显的下降趋势 [(22.54 ± 3.13) - (7.78 ± 0.20) mg · g⁻¹];栽培 135 d,不同部位秋茄根可溶性缩合单宁含量随着远离根尖呈明显的下降趋势 [(40.45 ± 10.21) - (15.93 ± 0.72) mg · g⁻¹].

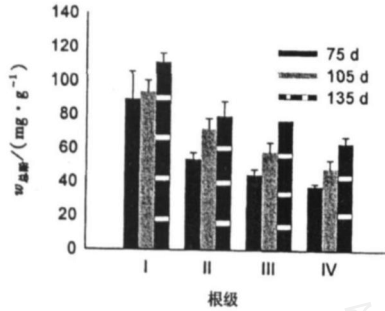


图 6 不同部位秋茄根总酚含量

Fig. 6 Total phenolics (TP) content of different parts of *K. candel* roots

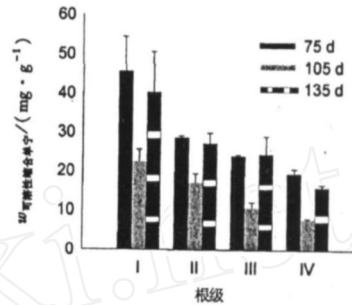


图 7 不同部位秋茄根可溶性缩合单宁含量

Fig. 7 Extractable condensed tannin (ECT) content of different parts of *K. candel* roots

从图 8 可见,15% 盐度下栽培 75、105 和 135 d,不同部位秋茄根结合缩合单宁含量随着远离根尖呈明显的下降趋势.从图 9 可见,15% 盐度下栽培 75、105 和 135 d,不同部位秋茄根总结合缩合单宁含量也随着远离根尖呈明显的下降趋势.

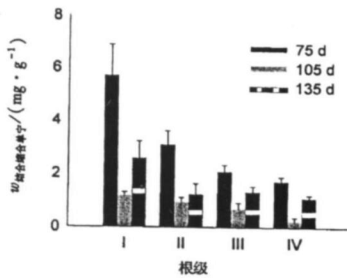


图 8 不同部位秋茄根结合缩合单宁含量

Fig. 8 Bound condensed tannin (BCT) content of different parts of *K. candel* roots

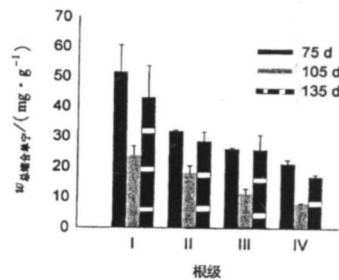


图 9 不同部位秋茄根总缩合单宁含量

Fig. 9 Total condensed tannin (TCT) content of different parts of *K. candel* roots

3 讨论

从图 2 可以看出,秋茄根在不同盐度下栽培的不同时期,总酚最高含量都出现在高盐度.其中在栽培 60 - 135 d 期间,根的总酚含量基本上是在盐度 30‰、35‰ 时较高,说明一定的高盐度胁迫可以促进总酚的合成. Muthukumarasamy et al.^[12] 报道植物组织多酚的增加能缓解由 NaCl 引起的离子压力.这是由于环境适宜的时候植物利用更多的营养来生长,相应地用于合成次生代谢产物和储存的营养减少^[13],所以在有利于根生长的低盐度下 (0‰ - 25‰) 合成的次生代谢物较少. GDB 理论 (the growth-differentiation hypothesis) 认为,任何促进光合作用的环境因素都能够增加次生代谢的物质资源^[13].一定的高盐度抑制根生长,次生代谢物增多;但盐度过高,高盐胁迫严重干扰了细胞的生理活性,使细胞无法正常地进行生理活动.倘若植物生长和光合作用都受到严重抑制,这时为了维持必需的主要代谢和最基本的生存可能会优先利用有限的碳源;但由于能量和营养的限制,依靠碳的次生代谢就会下降^[14];总酚属于依靠碳的次生代谢产物,次生代谢旺盛,总酚含量就高,次生代谢下降,总酚含量就低.所以最高的总酚含量出现在一定的高盐度.总缩合单宁的含量主要受次生代谢中间产物和还原力 (NADH) 的影响,其含量是次生代谢中间产物和还原力共同作用的结果^[15].结合缩合单宁含量很低,总缩合单宁含量主要取决于可溶性缩合单宁的含量,所以可溶性缩合单宁含量变化与总缩合单宁含量变化相似 (图 3),结合缩合单宁含量没有明显的变化规律 (图 4).

秋茄幼苗在同一盐度的不同栽培时期根总酚含量于 60 - 90 d 呈波动变化,于 90 - 135 d 总酚含量呈明显上升趋势;可溶性缩合单宁含量于栽培 75 - 105 d 呈下降趋势,然后明显升高,于 120 d 最高,135 d 又下降;由于可溶性缩合单宁含量显著高于结合缩合单宁含量,所以总缩合单宁含量的变化趋势与可溶性缩合单宁含量变化趋势相似。Kandil et al^[15]报道在植物生长的初期有一些次生代谢物含量最高。Crankshaw et al^[16]研究表明,芽的次生代谢物含量最高,随着叶的展开,次生代谢物含量下降。随着植物进一步生长,由于时间效应,次生代谢产物不断积累,相应的总酚和缩合单宁含量上升。秋茄根总酚含量也有相似的结果。

从图 6 可以看出,在盐度 15‰ 下栽培 75、105、135 d 的秋茄根由靠近根尖到远离根尖的部位总酚呈明显下降趋势,这是红树植物长期适应环境的结果。可能由于越靠近根尖的部位,保护组织越不发达,薄壁组织越容易受外界环境如无机环境、病原体、植食动物胁迫,为了应对胁迫,一方面细胞需要更多的营养生长,另一方面需要增加次生代谢物以增强对不良环境的抵抗力,细胞通过减少储存营养来增强次生代谢,次生代谢产物含量较多。越远离根尖的部位,保护组织相对越发达,薄壁组织受环境的胁迫程度越小,在环境胁迫减弱的情况下,光合产物更多地满足细胞的生长和营养储存,合成的次生代谢物减少。总酚属于次生代谢产物,次生代谢产物多,总酚的含量相应就高;次生代谢产物少,总酚的含量相应就低。所以秋茄幼嫩的根尖总酚含量高,越远离根尖,总酚含量越低。缩合单宁含量与总酚含量变化趋势相似(图 7 - 9)。

在栽培 75 - 135 d 之间,秋茄根同一部位的总酚含量呈上升趋势,可溶性缩合单宁、结合缩合单宁和总缩合单宁含量呈现相似变化趋势,先下降后上升。

参考文献

- [1] BENNER R, WELIKY K, HEDGES J I. Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical estuary: Molecular-level analyses of neutral sugars and lignin-derived phenols [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1990, 54: 1991 - 2001.
- [2] 石碧,狄莹. 植物多酚 [M]. 北京:科学出版社,2000.
- [3] LN YM, LU JW, XIANG P, et al. Tannin dynamics of propagules and leaves of *Kandelia candel* and *B. nuguiera gymnorhiza* in the Jiulong River Estuary, Fujian, China [J]. *Biogeochemistry*, 2006, 78: 343 - 359.
- [4] HERNES P J, BENNER R, COWIE GL, et al. Tannin diagenesis in mangrove leaves from a tropical estuary: A novel molecular approach [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 2001, 65: 3109 - 3122.
- [5] KOVACS J M. Assessing mangrove use at the local scale [J]. *Landscape Urban Plan*, 1999, 43: 201 - 208.
- [6] LN P, FU Q. Environmental Ecology and Economic Utilization of Mangroves in China [M]. Beijing, Berlin Heidelberg: China Higher Education Press, Springer-Verlag, 2000.
- [7] 林益明,向平,林鹏. 红树林单宁研究进展 [J]. *海洋科学*, 2005, 29 (3): 59 - 63.
- [8] 林鹏. 中国红树林生态系 [M]. 北京:科学出版社,1997.
- [9] GRAHAM H D. Stabilization of the prussian blue color in the determination of polyphenols [J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 801 - 805.
- [10] TERRILL T H, ROWAN A M, DOUGLAS G B, et al. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains [J]. *J Sci Food Agric*, 1992, 58: 321 - 329.
- [11] 卢纹岱. SPSS for Windows 从入门到精通 [M]. 北京:电子工业出版社,1997.
- [12] MUTHUKUMARASAMY M, GUPTA S D, PANNERSELVAM R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activity by triadimefon in NaCl stressed *Papuanus sativus* L. [J]. *Biol Plant*, 2000, 43: 317 - 320.
- [13] HERMS D, MATTSON W. The dilemma of plants: to grow or defend [J]. *Quart Rev Biol*, 1992, 67: 283 - 335.
- [14] BRYANT J P, TUOMI J, NICOLA P. Environmental constraint of constitutive and long-term inducible defenses in woody plants [C]. SPENCER K I C. *Chemical Mediation of Coevolution*. San Diego: Academic Press, 1988: 367 - 389.
- [15] KANDIL F E, GRACE M H, SEIGLER D S, et al. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence [J]. *Trees*, 2004, 18: 518 - 528.
- [16] CRANKSHAW D R, LANGENHEM J H. Variation in terpenes and phenolics through leaf development in *Hymenaea* and its possible significance to herbivory [J]. *Biochem Syst Ecol*, 1981, 9: 115 - 124.

(责任编辑:陈幼玉)