

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.02.019

德保苏铁回归后几个生理指标的比较研究

李正文¹, 陈丽丽^{1,2}, 李志刚¹, 李素丽¹, 李楠^{2*}

(1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 深圳市中国科学院仙湖植物园, 广东深圳 518004)

摘要: 以广西黄连山自然保护区内的德保苏铁幼苗为材料, 研究了不同叶数苏铁幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性以及丙二醛(MDA)、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的变化。结果表明: 在7月至11月间, 随着时间的推移, 德保苏铁幼苗叶片的SOD、POD活性均呈递增趋势, CAT活性则先缓慢下降后又呈递增的趋势; MDA含量呈下降趋势; 脯氨酸含量呈缓慢上升趋势; 可溶性糖和可溶性蛋白质均呈持续积累趋势。综合分析结果表明: 可将不同叶数苏铁幼苗分为两类: 5叶植株单独为一类, 环境适应能力强; 3叶植株和4叶植株可聚为一类, 环境适应能力相对较强。

关键词: 德保苏铁; 回归引种; 保护酶活性; 脯氨酸; 可溶性糖

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)02-0243-05

Comparative study on several physiological characters among the re-introduced population of *Cycas debaoensis*

LI Zheng-Wen¹, CHEN Li-Li^{1,2}, LI Zhi-Gang¹, LI Su-Li¹, LI Nan^{2*}

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Shenzhen FairyLake Botanical Garden and the Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518004, China)

Abstract: Comparative study on the activity of superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), peroxidase(POD), malonaldehyde(MDA) as well as the content of proline, soluble sugar and soluble protein in leaves of the seedlings of *Cycas debaoensis* in Huang-lian-shan Nature Reserve of Guangxi was carried out in the present paper. Results showed that the activity of SOD and CAT was increased in the whole development stage, while CAT activity decreased at earlier stage and then increased; MDA activity declined; proline showed a slow increasing tendency and the soluble sugar and soluble protein continuously accumulated. According to a comprehensive analysis, seedlings of *C. debaoensis* could be divided into two classes, plants with five leaves, which had a relatively higher environment adaptation; plants with three or four leaves merged into one class, which had a lower adaptability.

Key words: *Cycas debaoensis*; re-introduction; defense enzyme activities; proline; soluble sugar

德保苏铁(*Cycas debaoensis*)是我国西南地区特有的苏铁种类, 属国家一级保护植物。由于生境破坏, 目前野生植株较少, 据 IUCN 等级, 属濒危物种。珍稀濒危植物的保护有三种常用方式: 就地保

护、迁地保护和回归引种。就地保护是在受保护物种的原产地进行保护。迁地保护是指将受保护物种的部分或全部植株迁移到其他地区进行保护。一些植物园除了活植物收集圃之外, 还建立了田间基因

① 收稿日期: 2011-08-14 修回日期: 2011-11-28

基金项目: 国家林业局野生动植物保护与自然保护区管理司珍稀濒危物种野外救护与繁育财政专项(2008)[Supported by the Rare and Endangered Species Field Rescue and Breeding Special Financial Fund, Department of Wildlife Conservation and Nature Reserve Management, State Forestry Administration, China(2008)]

作者简介: 李正文(1964-), 男, 湖南冷水江人, 博士, 副教授, 主要从事植物资源与植物生理生化等教学和研究, (E-mail) phdzhwli@sina.com。

* 通讯作者: 李楠, 女, 研究员, 主要从事苏铁类植物的系统分类学、保育、栽培等研究, (E-mail) liandrea1963@yahoo.com.cn。

库、种子库、离体保存库等设施,成为进行植物迁地保护的主要机构。回归引种是将濒危植物重新定植于该物种原有的自然分布区及相同或相似的生境内,通过采取一定的人工辅助措施,使其最终成为或强化为可长期成活的、自行维持下去的居群(Kierstead,1987)。由于绝大多数的物种是因为生境地丧失或遭破坏而成为珍稀濒危物种的,对于这些物种来说,回归引种是拯救该物种的极为有效的方法(Griffith,1989),被认为是连接就地保护和迁地保护的桥梁(陈灵芝等,2001),是生态保护的一个重要组成部分,也是迁地保护的稀有、濒危植物的最终归宿(Maunders,1992),所以这些年来国际上已有不少研究机构从事这个新领域的研究。

2002年,深圳仙湖植物园担当起德保苏铁迁地保护研究任务。2007年11月,国家林业局启动德保苏铁回归自然项目。2008年4月,由深圳市仙湖植物园“国家苏铁种质资源保护中心”播种繁育的500株德保苏铁实生苗被回归种植到广西黄连山自然保护区。根据回归后两年的跟踪调查表明,回归种群生长良好,发叶率达94%,根系发育良好,并伴有大量的珊瑚根。但由于回归种植在热带季风气候区,在

每年的7月至11月间,随着气温升高、秋季天气逐渐干燥,德保苏铁对外界环境变化的反应如何,是否具有抵抗胁迫环境的能力等,目前均不见报道。从保育地到回归地的过程中,由于生境的改变,对回归植物的生理生态产生了影响,不同叶数的植株对回归环境有何适应,也不得而知。因此,本文分别于2010年7月、9月、11月对广西黄连山自然保护区内的回归苗进行了系统的调查,拟从植物生理响应的角度,研究不同叶数的德保苏铁到回归地后的生理生态响应,为德保苏铁回归保护提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

广西黄连山自然保护区位于广西壮族自治区德保县境内,由黄连山片和兴旺片组成,引种地点为原黄连山林场老场部前后山坡,海拔为850~900 m,106°14'E,23°33'N。属热带季风气候,夏季闷热多雨,秋季昼夜温差大,冬季低温干燥,春季回暖早频;无霜期长,雨量充沛,光照充足,热量丰富;但灾害性天气出现频繁。年平均气温为19.5℃,最热月

表1 德保苏铁回归地与原生地土壤的基本情况

Table 1 Basic properties of soil in reconstruction site and origin site of *Cycas debaoensis*

指标 Characters	pH 值 pH value	有机质(%) Organic material	全氮(mg/kg) Total nitrogen	有效磷(mg/kg) Effective phosphoru	速效钾 Effective kalium (mg/kg)	质地(%) Texture (<0.01 mm)
回归地 Reconstruction site	4.59~5.19	33.90~47.43	1.95~2.32	47.3~53.0	71.3~78.8	57.17
原生地 origin site	6.02~6.40	30.72~42.61	1.65~2.09	1.7~5.5	36.3~57.5	53.68

平均气温25.6℃,最冷月平均气温11.4℃,历年极端最高气温37.2℃,历年极端最低气温-2.6℃。雨量充沛,分布不均,年总降雨量1473.9 mm;其中5~10月降雨量1220.9 mm,占全年降雨量的82.8%。全年日照1475.0 h,占可照时数的30%。

该区是典型的峰林谷地地貌,属石灰岩地带。毗邻德保苏铁的模式产地——德保县扶平镇上坪垌,因此生态环境与德保苏铁的模式产地极为相似。表1为回归地与原生地土壤的基本情况。

1.2 供试材料

种植密度为每亩约40株,共500株。经过调查,发现全部苗木在叶长、叶宽、羽叶数等这些形态性状上没有明显的差异,变异幅度小;但是,各植株的叶片数却明显表现为3叶或4叶或5叶。由于苏铁叶片生长比较缓慢,因此,对保护区内回归的全部苗木,根据叶片数,划分为3叶植株、4叶植株和5

叶植株这三种类型。

1.3 样品采集与测定方法

每种类型选取优势植株各五株采其当年生叶片,所取叶片先用液氮冷处理后装入带冰块的保温箱中运回,置于-20℃冰箱保存以备测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法(汤章城,1999)。过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的测定采用分光光度计法;丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法(张志良,2003)。脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法(邹琦,2003);可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法(李合生等,2000);可溶性蛋白质含量考马斯亮蓝比色法(汤章城,1999)。

1.4 数据处理

所有数据均用Excel2003计算处理,采用SPSS软件进行分析,采用单因素方差分析(one-way

ANOVA)比较不同数据组间的差异。

2 结果与分析

2.1 叶片 SOD 活性的变化

德保苏铁体内的 SOD 活性呈递增趋势(图 1),但各级植株间递增的速率明显不同。3 叶植株、4 叶植株和 5 叶植株的 SOD 活性在 9 月份急剧上升,比 7 月份分别上升 358.4%、855.2%、450.5%;到了 11 月份还继续上升,分别比 9 月份上升了 236.1%、362.89%和 386.1%。

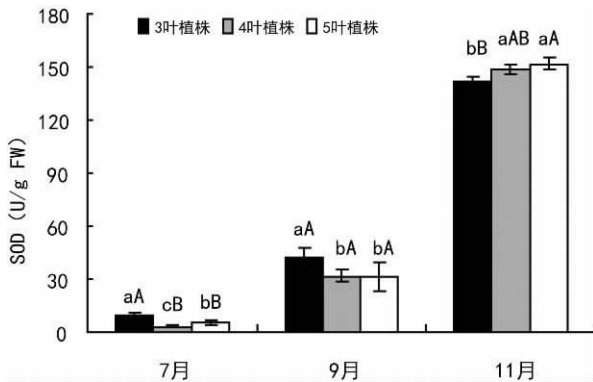


图 1 叶片 SOD 活性的变化

Fig. 1 Changes of SOD activities of leaves

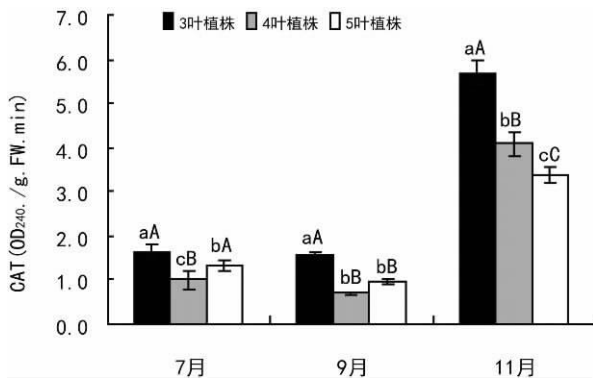


图 2 叶片 CAT 活性的变化

Fig. 2 Changes of CAT activities of leaves

2.2 叶片 CAT 活性的变化

由图 2 可知,CAT 活性呈递增趋势,各级植株间递增的速率也明显不同。3 叶植株、4 叶植株和 5 叶植株的 CAT 活性在 9 月份出现了缓慢下降趋势,比 7 月份分别下降了 3.0%、29.0%和 26.3%,而到了 11 月份却明显回升,分别比 7 月份上升了 244.8%、308.0%和 154.1%;其中,4 叶植株 CAT 活性下降和上升的速度都明显大于其它植株。

2.3 叶片 POD 活性的变化

由图 3 可见,POD 活性也呈递增趋势。POD 活性在各植株间差异极显著($P < 0.01$),均表现为 3 叶植株 > 4 叶植株 > 5 叶植株,7 月到 9 月上升幅度不大,分别为 35.8%、23.7%和 17.3%,但 9 月到 11 月却上升了 98.1%、155.5%和 205.5%。

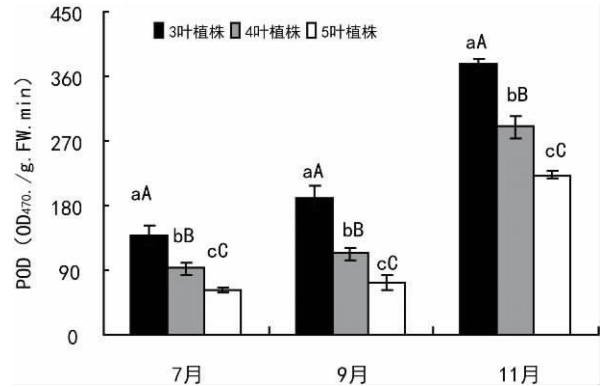


图 3 叶片 POD 活性的变化

Fig. 3 Changes of POD activities of leaves

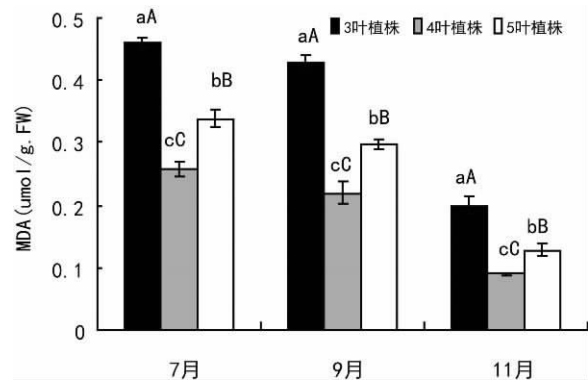


图 4 叶片 MDA 含量的变化

Fig. 4 Changes of MDA contents of leaves

2.4 叶片 MDA 含量的变化

从图 4 可看出,各级植株的 MDA 含量有明显差异,均表现为 4 叶植株 < 5 叶植株 < 3 叶植株;MDA 含量总体呈下降趋势,7 月到 9 月的下降速率分别为 6.5%、15.4%和 11.8%,9 月到 11 月下降了 53.5%、59.1%和 56.7%;4 叶植株 MDA 含量的下降速度比较大。可见,4 叶植株细胞膜脂过氧化作用比较弱,膜损伤不大,表现出较强的抗逆性。

2.5 叶片脯氨酸含量的变化

从图 5 可看出,在 7 月份,各级植株脯氨酸含量差异显著;但在 9 月和 11 月差异不明显。3 叶植株、4 叶植株和 5 叶植株脯氨酸含量呈缓慢上升趋势,7 月到 9 月分别上升了 18.2%、26.3%和 30.6%;9 月到

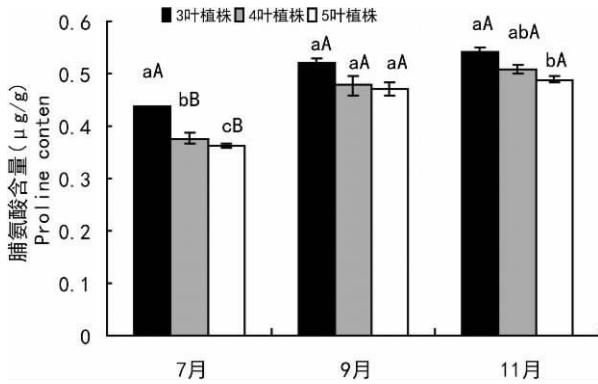


图 5 叶片脯氨酸含量的变化

Fig. 5 Changes of proline contents of leaves

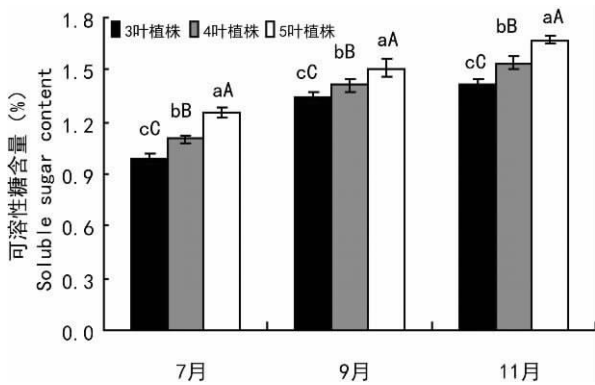


图 6 叶片可溶性糖含量的变化

Fig. 6 Changes of soluble sugar contents of leaves

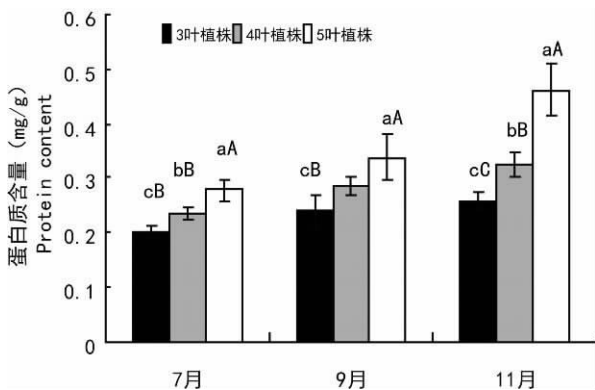


图 7 叶片可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 7 Changes of soluble protein contents of leaves

11 月上升幅度却不大,分别为 3.8%、6.3%和 4.3%。

2.6 叶片可溶性糖量的变化

由图 6 可以看出,各植株叶片可溶性糖表现为 5 叶植株 > 4 叶植株 > 3 叶植株,这与其生物生长相似。其可溶性糖呈持续积累趋势。11 月与 7 月相比,3 叶、4 叶、5 叶植株的增长速度分别是 43.4%、40.0%、32.5%,表现为 3 叶植株 > 4 叶植株 > 5 叶

植株;说明可溶性糖含量发生显著变化,植株叶片越少,易受外部环境的影响。

2.7 叶片可溶性蛋白质含量的变化

图 7 中,各植株叶片可溶性蛋白质含量表现为 5 叶植株 > 4 叶植株 > 3 叶植株,这也与其生物生长相似。可溶性蛋白质也均呈积累趋势。9 月与 7 月相比,3 叶、4 叶、5 叶植株的增长速度分别是 20.0%、20.8%、21.4%;11 月与 7 月相比,增长速度分别是 30.0%、33.3%、35.3%;均表现为 5 叶植株 > 4 叶植株 > 3 叶植株,这与其含量变化相似,说明蛋白质含量相对稳定。

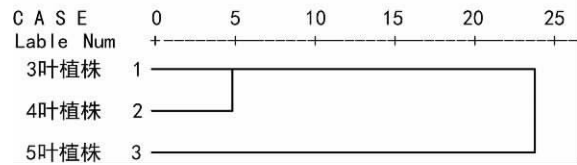


图 8 各材料生理指标综合聚类图

Fig. 8 Comprehensive clustering of characters

2.8 生存能力综合评价

综合各项生理指标的月变量,将 3 种不同叶数苏铁幼苗进行聚类分析,图 8 结果表明,不同叶数苏铁幼苗可分为两类。其中 5 叶植株单独为一类,其各项生理指标总体变化稳定,环境适应能力强;3 叶植株和 4 叶植株可聚为一类,其各项生理指标总体变化相对稳定,环境适应能力相对较强。

3 结论与讨论

3.1 植物生长与抗氧化酶活性的关系

植物在逆境条件下产生的活性氧自由基(ROS)会破坏植物体内的细胞膜以及蛋白质等大分子物质(Schimint,1967),从而影响到植物的正常生长与发育。同时在逆境条件下植物体内的保护酶系统,即抗氧化酶系统,主要包括 SOD、CAT、POD,能够消除体内多余的自由基(张继澍,2006)。这些酶联系着植物的生长和生理特性,在一定的逆境胁迫下,抗氧化酶活性的高低被认为植物自我保护能力的大小(Senaratna 等,1985)。在 7 月至 11 月间,德保苏铁幼苗叶片的抗氧化酶活性总体表现出递增的趋势,这有可能是由于植株体内活性氧的增加引起的;但各植株间存在很大差异,表现为:(1)3 叶植株、4 叶植株和 5 叶植株的 SOD 活性大小各不一致;(2)3

叶植株的 CAT 活性显著或极显著大于 4 叶植株或 5 叶植株;(3)POD 活性均极显著表现为 3 叶植株 > 4 叶植株 > 5 叶植株。可见,为清除多余的活性氧,各植株的 SOD、POD 和 CAT 活性上升,从而维持活性氧代谢平衡,保护细胞膜结构,使植物具有抵抗胁迫环境的能力。

3.2 膜脂过氧化作用与抗氧化酶活性的关系

植物在逆境胁迫下,往往发生膜脂过氧化作用而产生丙二醛(MDA),此产物通常被作为膜脂过氧化指标。在 7 月至 11 月间,德保苏铁幼苗叶片的 MDA 含量各植株间极显著表现为 4 叶植株 < 5 叶植株 < 3 叶植株;这与其生物生长不一致。有关研究表明抗氧化酶活性与 MDA 含量紧密相联,抗氧化酶活性高则 MDA 含量低(徐东生等,2007),这在德保苏铁幼苗上也得到证实。MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,MDA 含量呈下降趋势,推测较高的抗氧化酶活性能够抑制膜脂过氧化作用,从而使 MDA 含量保持在较低水平。

3.3 植物抗逆性与脯氨酸含量的关系

当植物处于高温等逆境胁迫下,脯氨酸含量上升(赵福庚等,1999)。脯氨酸含量上升是植物适应胁迫环境的表现,其积累指数与植物的抗逆性有关,脯氨酸含量上升幅度大则抗逆性强。本研究表明,虽然德保苏铁幼苗的脯氨酸含量在各植株间差异不明显,但在 7 月至 11 月间也呈现出缓慢上升趋势,可认为德保苏铁幼苗处在一个相对良好的环境中,没有受逆境胁迫,或者受轻微胁迫但不影响植株正常生长。

3.4 可溶性糖与可溶性蛋白质的关系

植物体内可溶性糖和可溶性蛋白质密切相关,可溶性糖的大量积累,促使细胞渗透势下降,从外界继续吸水,这样可以保持蛋白质的水合度,防止原生质脱水,使植物体内各种代谢过程正常进行(赵志刚等,2005)。本研究表明,德保苏铁幼苗可溶性糖和可溶性蛋白质含量在 7 月至 11 月间均呈递增趋势,且显著表现为 5 叶植株 > 4 叶植株 > 3 叶植株,这与其生物生长相似。

在 7~11 月,随着时间的推移,德保苏铁各植株体内的 SOD、POD 活性均呈递增趋势,CAT 活性则先缓慢下降后又呈递增的趋势;MDA 含量呈下降趋势;脯氨酸含量呈缓慢上升趋势;叶片可溶性糖和可溶性蛋白质均呈持续积累趋势。通过聚类分析可将不同叶数苏铁幼苗分为两类:5 叶植株单独为一类,环境适应能力强;3 叶植株和 4 叶植株可聚为一

类,环境适应能力相对较强。

本研究从回归植物的生理生态方面进行比较,可看出:从深圳仙湖植物园回归引种到广西黄连山自然保护区后,德保苏铁幼苗的生长状况都表现良好;其中,3 叶植株和 4 叶植株差别不明显,5 叶植株的环境适应性略优。

由于珍稀濒危物种的回归是一个非常漫长的过程,而评价回归是否成功的一个最起码的标准是从种子到种子,即回归的植物能在自然生境中正常生长、发育,能够产生有生命力的种子;因此,本研究可作为德保苏铁回归效果评价的一个重要依据。

参考文献:

- 陈灵芝,马克平. 2001. 生物多样性科学:原理与实践[M]. 上海:上海科学技术出版社:1-308
- 李合生,孙群,赵世杰,等. 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社:164-169
- 汤章城. 1999. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社:314-315,392-394
- 张志良. 2003. 植物生理学实验指导(第 3 版)[M]. 北京:高等教育出版社:121-124,274-277
- 张继澍. 2006. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社:431-432
- 邹琦. 2003. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社:161-162
- Griffith B, Scott JM, Carpenter JW. 1989. Translocation as a species conservation tool; Status and strategy[J]. *Science*, **245**:477-480
- Kierstead J. 1987. Species Reestablishment in Native Habitat. A First for Berry Garden[M]. *Bulletin of Berry Botanic Garden*, **10**(3):175
- Maunder M. 1992. Plant reintroduction; an overview[J]. *Biodiv Cons*, **1**:51-61
- Schimint, Blaserl. 1967. Effect of temperature, light and nitrogen on growth and metabolism of 'Cohansey' bentgrass[J]. *Crop Sci*, (7):447-451
- Senaratna T, Mckersie BD, Stinson RH. 1985. Antioxidant levels in germinating soybean seed axes in relation to free radical and dehydration tolerance[J]. *Plant Physiol*, **78**:167-171
- Xu DS(徐东生), Meng ZQ(孟志卿). 2007. Effects of high temperature stress on several physiochemical and indexes of *Festuca arundinacea* Schreb and *Cynodon dactylon*(高温对高羊茅和狗牙根几个生理生化指标的影响)[J]. *Acta Agric Jiangxi*(江西农业学报), **19**(8):67-68
- Zhao FG(赵福庚), Liu YL(刘友良). 1999. Advances in study on metabolism and regulation of proline in higher plants under stress(胁迫条件下高等植物体内脯氨酸代谢及调节的研究进展)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **16**(5):540-546
- Zhao ZG(赵志刚), Li FM(李方民), Yue M(岳明). 2005. A physiological comparative study on resistance of *Festuca arundinacea* and *Poa pratensis* in different temperature(不同温度下高羊茅、早熟禾抗逆性生理指标的比较研究)[J]. *Sichuan Grassl*(四川草原), **12**(121):10-13