

四川王朗自然保护区缺苞箭竹 (*Fargesia denudate* Yi.) 总酚含量及变化规律

李腾飞, 李俊清*

(北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要: 采用分光光度法对四川王朗自然保护区缺苞箭竹的总酚含量进行了分析, 结果表明: 在采集到的不同器官中均有酚类物质分布, 总酚含量最高的为叶龄超过 1a 的老叶 (2.05%), 笋中的总酚含量最低 (0.20%)。海拔高度和日照强度在一定程度上影响其含量变化, 在海拔高和光照强的条件下, 幼嫩器官中的总酚含量有明显增加的趋势。研究分析了缺苞箭竹各器官总酚含量的变化规律, 及其与环境因子和大熊猫采食量之间的关系。

关键词: 缺苞箭竹; 总酚; 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*); 采食量

文章编号: 1000-0933(2009)08-4512-05 中图分类号: Q948 文献标识码: A

Analysis of the concentration of total phenolics in *Fargesia denudate* Yi.

LI Teng-Fei, LI Jun-Qing*

The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4512 ~ 4516.

Abstract: This paper studied the second metabolism changes under the natural forest condition. Concentrations of total phenolics were measured in *Fargesia denudate* by a colorimetric method. The results showed that phenolic compounds in bamboo were present throughout the collected organs with the highest concentration in old leaves (2.05%) and the lowest content (0.20%) in shoots. Sunshine and air temperature influence the concentrations of total phenolics. With the increment in altitude and solar radiation, there is an obvious increase of total phenolics in young bamboo organs. By a data analysis, it has revealed that close relationship existed among the variation of total phenolics in different organs of *Fargesia denudate*, the environmental factors and the ingestive volume of the Giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*).

Key Words: *Fargesia denudate*; total phenolics; Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*); ingestive volume

酚类物质是植物体内最普遍存在的次生代谢物质和唯一分子水平上的防御物质^[1,2], 其中多酚类物质 (包括简单酚、水解单宁和缩合单宁) 和黄酮最受关注^[3,4]。多酚类物质受到研究人员的重视, 首先是作为化工原料和食品添加剂的使用^[5], 20 世纪 60 年代, 一些学者发现多酚类物质具有降低消化酶活性及沉降蛋白质的作用^[6], 是植物体内唯一的分子水平上的防御物质^[7], 动物采食植物时, 植物体内的多酚与动物口腔中唾液蛋白酶结合发生沉降作用, 使动物舌部皮肤收缩而产生涩觉, 降低植物的适口性^[8], 产生拒食效果以减少植食者的取食, 并可与食物中的蛋白质结合以降低其营养价值, 与植食者消化道内的消化酶结合降低其消化能力, 从而导致植食者的营养不良^[9,10], 植物酚类物质的研究对于揭示植物的化学防御跟微生物, 植食动物的协同进化机制具有重要的意义。

酚类物质中研究最多的是茶多酚 (Tea polyphenols)^[11], 有关竹子的研究较少^[12]。根据调查显示, 大熊猫

基金项目: 国家林业局科技司资助项目 (AT0410); 国家“十一五”科技支撑资助项目 (2008BADB0B04)

收稿日期: 2008-09-06; 修订日期: 2009-03-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lijq@bjfu.edu.cn

(*Ailuropoda melanoleuca*)野外的食物组成中,99%为各种竹子,包括竹茎、竹枝、竹叶和竹笋^[13],只有1%为其他食物,其食性相当单一,因此,竹子作为大熊猫的主要食物,其生长状况以及各种营养成分,都对大熊猫的营养和生存有着至关重要的作用。而多酚类物质是植物的可食性指标之一,研究总酚含量对于评价大熊猫栖息地质量具有重要的参考价值。本文以四川王朗自然保护区的缺苞箭竹(*Fargesia denudate*)作为研究对象,分析其不同生长部位的总酚含量,以及环境因素对总酚含量的影响,并探讨其与大熊猫取食之间的关系。

1 研究地概况

王朗自然保护区位于四川省平武县西北,东经103°55′到104°10′,北纬32°49′到33°02′,总面积325km²,海拔在2300m到4980m之间,年均温2.9℃,年降雨量860mm,主要集中于5到10月,11月到翌年4月是干季。保护区从低海拔到高海拔依次分布着落叶阔叶林、针阔混交林、针叶林、灌丛和高山草甸,林下有茂密的竹类植物,主要有缺苞箭竹和华西箭竹(*Fargesia nitida*),但缺苞箭竹分布面积和数量较多,为王朗大熊猫的主要食物。

2 实验方法

2.1 采样

采样于2008年7月进行,在王朗自然保护区大熊猫分布区域内,沿着海拔梯度设置采样点,海拔每升高50m,设置一个采样点。选择样点时控制坡度、坡向、乔木层郁闭度等环境因子基本一致。在竹子生长状况较好的竹根岔保护点设置同一海拔,不同光照强度的3个采样点做光照因子影响分析。各采样点的基本情况见表1。采集林下缺苞箭竹竹叶、竹秆以及竹笋等,记录采样时间、采样地点海拔、经纬和基本植被状况特征。每个样品采集大约100g左右,带回实验室室温下阴干(25℃左右),放入自封袋中加入变色硅胶保存备测。

表1 采样点概况
Table 1 The environment condition of the sampling sites

采样点 Sites	海拔(m) Altitude	坡度(°) Slope	坡向 Aspect	乔木郁闭度(%) Canopy density	竹子盖度(%) Coverage of bamboo
1	2480	10	S	50	30
2	2541	20	SE	60	45
3	2604	10	E	55	20
4	2664	15	SE	55	50
5	2667	10	SE	0	20
6	2677	10	SE	85	45
7	2731	15	SE	60	40
8	2780	10	S	50	35
9	2839	10	SE	45	45
10	2897	15	E	60	50
11	2939	10	SE	50	60
12	2980	10	SE	55	35

2.2 实验步骤

2.2.1 绘制没食子酸标准曲线

精确称取没食子酸0.0040g,甲醇超声波溶解转入100ml容量瓶,冷却定容,精密吸取0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5ml于25ml容量瓶中加2.5ml Folin-Denis试剂,摇匀、静置8min后再加入3ml 7.5% Na₂CO₃溶液,于50℃水浴反应5min,冷却定容。以空白溶液为参比溶液,于760nm处测定对照品溶液的吸光度。对所测得的数据采用直线回归法计算出标准曲线的回归方程,并以对照品的浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线图。

2.2.2 提取与测定

本文采用Folin-Denis法(F-D)法^[14]测定总酚含量。将样品放入微型粉碎机中粉碎,过40目筛,精确称

取约 0.5g 样品粉末,转移到平底烧瓶中,加入 20ml 丙酮-水溶液(丙酮:水 = 1:1),45℃ 水浴过夜。吸取上清液 0.1~2ml 于 25ml 容量瓶中,加入 2.5ml Folin-Denis 试剂反应 8min。再加入 3ml Na_2CO_3 溶液,50℃ 水浴 5min,冷却定容。以空白溶液为参比溶液,于 760nm 处测吸光度。根据没食子酸标准曲线,计算出总酚含量的质量分数。

2.2.3 数据分析

在方差分析的基础上,利用多重比较的方法(LSD),检验缺苞箭竹各器官总酚含量平均值的差异,将其与环境因子作 Pearson 相关分析。

3 结果与分析

3.1 缺苞箭竹总酚含量与分布

酚类物质在所有采集的竹子器官中都有分布,含量最高的器官为叶龄超过 1a 的老叶,总酚质量分数为 2.05% (所有样品平均值,下同)。笋的总酚含量最少,质量分数为 0.20%。多年生秆、当年的新叶、2 年生秆中的总酚含量分别为 0.97%、0.75%、0.47%。单因素方差分析表明不同器官间总酚含量均有显著性差异($P < 0.05$),图 1 为缺苞箭竹不同器官中总酚含量比较。

3.2 总酚含量与海拔变化的关系

将不同采样点(表 1 中的 1~4,7~12)的缺苞箭竹各器官总酚含量与其对应的海拔高度做 Pearson 相关分析,结果表明笋和当年生的新叶中,总酚含量与海拔高度有极显著的正相关性($P < 0.01$),2 年生秆的总酚含量与海拔高度有显著的正相关性($P < 0.05$),多年生叶和多年生秆的总酚含量与海拔高度的相关性不显著($P > 0.05$),其相关系数和 P 值见表 2。

3.3 总酚含量与光照强度的关系

采样点 5 号为开阔空地,没有乔木生长,竹丛较稀疏;采样点 6 号为乔木生长茂盛的郁闭样地,竹丛生长良好;4 号采样点乔木郁闭度为 55%,竹丛生长茂盛。图 3 为 3 个采样点缺苞箭竹不同器官总酚含量比较。其中,不同光照下,笋、2 年生秆和新叶的总酚含量均有显著性差异($P < 0.05$),多年生秆和多年生叶与光照强度没有显著性相关关系($P > 0.05$)。光照强的采样点,笋、2 年生秆和新叶的总酚含量明显高于光照较弱的采样点,而多年生秆和多年生叶在各种光照强度下,总酚含量没有表现出明显差异。

4 结论与讨论

Labiennic 等和 Sakihama 等^[15,16]的研究表明,大多数植物基本能合成多酚类物质,而植物体内的多酚物质是受生物和非生物胁迫如紫外线辐照、高光、低温、创伤、营养不良、病原体侵袭等诱导产生的,用以适应外界环境。酚类物质不是新陈代谢或在生产过程中必不可少的物质,在植物体内没有需求的最小值,其含量取决于植物的生长阶段和环境条件^[17]。图 1 中可以看出,缺苞箭竹总酚含量多年生老叶 > 多年生秆 > 当年的新叶 > 2 年生秆 > 笋。本次研究选择的采样时间为 7 月份,此时四川王朗地区气候温暖湿润,是竹子的生长旺季,特别是竹笋的生长非常迅速,笋中含水量很高,组织幼嫩初级化合物刚刚形成,次生化合物含量相对较

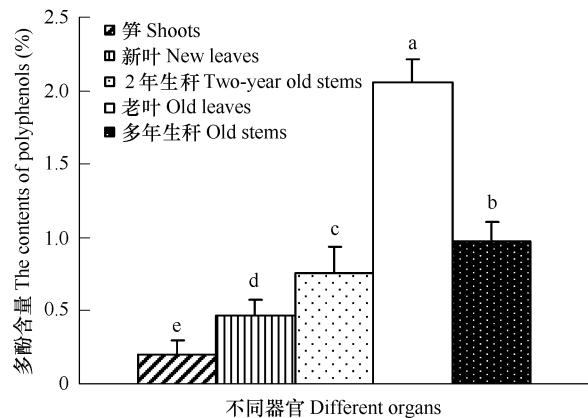


图 1 不同器官中的总酚含量比较

Fig. 1 Concentrations of total phenolics in different organs
相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$, LSD 检验);下同 Same letters indicate on significant differences, and different letters indicate significant differences by LSD test($P < 0.05$);the same below

表 2 海拔高度与总酚含量的相关关系

Table 2 The correlation between elevations and the concentrations of total phenolics

项目 Item	相关系数 r	P 值 P -value
笋 Shoots	0.889	0.001
二年生秆 Two-year old stems	0.636	0.048
新叶 New leaves	0.783	0.007
老叶 Old leaves	0.117	0.747
多年生秆 Old stems	0.055	0.881

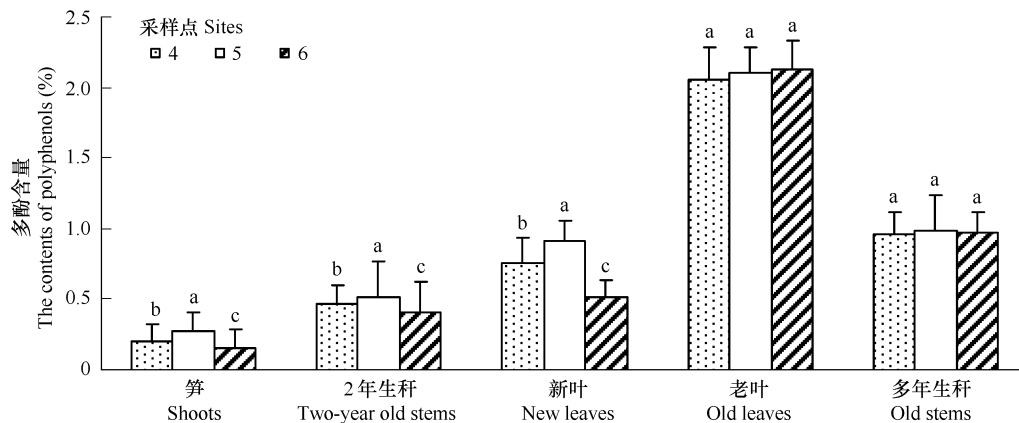


图3 不同光照条件下总酚含量

Fig. 3 Concentrations of total phenolics under different light circumstances

低,而2年生竹秆和多年生竹秆,由于生长期较长,积累的次生代谢化合物较多,总酚含量也相应地增加。程春龙等研究了额济纳绿洲胡杨不同器官中的酚类物质含量,结果表明胡杨趋向于在表皮器官中(叶和皮)合成和累积较多的总酚^[18],本次对于缺苞箭竹的研究得到了相同的结论,表现为多年生叶的总酚含量高于多年生秆,当年生的新叶的总酚含量高于2年生秆,在生长密集的竹丛中,竹叶比竹秆能够更多的接受阳光直射,因而积累了较高含量的多酚类物质,对于其抵御紫外辐射有着重要的意义。

Caldwell 等^[19]发现大多数生长在低纬度,高海拔的植物含有较多的酚类物质,而且在高山植物中这类物质的含量随海拔的增高而增加。Rozema 等^[20]的研究表明,随着环境光照强度的升高,植物体内的多酚由于能够吸收紫外光线而逐渐增加,可以认为,多酚类物质的增加是对环境光照增加的一种生物学适应性响应^[17,21]。本次研究表明,缺苞箭竹幼嫩器官(笋、当年生新叶和2年生秆)对海拔和光照的变化较为敏感,表现为总酚含量与海拔高度和光照强度正相关。多年生秆和多年生的老叶的总酚含量没有表现出与光照变化的相关性,并不代表其不受光照影响。由于植物生长受多种环境因子相互制约,如水分、土壤条件、不同时期不同的光照和温度等,多年生老叶和多年生秆在生长期中可能受到其他因素的影响,干扰了实验结果。如进一步研究各个环境因子对植物酚类合成与积累的影响,需要在室内严格控制试验条件来完成。

对大熊猫食性的研究表明,一般6~8月份竹笋基本萌发完毕,大熊猫越来越多的选择竹笋为食,其次为新叶和1年生秆,对老叶和多年生秆的采食很少,甚至完全不取食^[22,23],结合本次实验结果,可以看出大熊猫对竹子的不同部位的采食量基本随总酚含量递减而增加。缺苞箭竹中的总酚含量变化与大熊猫采食之间的关系体现了动植物之间的协同进化关系,酚类物质的收敛性即涩性能减少大熊猫的取食,使大熊猫在采食中避开老叶和多年生秆,倾向于选择含水量高,总酚含量低的幼嫩器官。而这些器官在被取食后,迅速积累多酚类次生代谢物质,使总酚含量随生长期的延长而增加。多年生秆纤维素含量很高,很难咀嚼,大熊猫极少采食,其总酚含量也低于多年生叶。大熊猫的采食选择受很多因素的影响,进一步研究其与总酚含量的具体适应机制,为大熊猫的食性研究工作提供了更多的资料,对于大熊猫栖息地的评价及保护有着重要意义。

References:

- [1] Hattenschwiler S, Vitousek P M. The role of polyphenols in litter from tropical montane forests across a wide range in soil fertility. *Biogeochemistry*, 2003, 64: 129—148.
- [2] Harborne J B. Phenols in natural products. In: Mann J, et al. *Natural products: Their chemistry and biological significance*. Harlow: Addison Wesley Longman, 1994. 27: 157—165.
- [3] Wateman P G, Mole S. *Analysis of phenolic plant metabolites*, Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. 116—133.
- [4] Song L J, Di Y, Shi B. The significance and development trend in research of plant polyphenols. *Progress in Chemistry*, 2000, 12(2): 161—170.
- [5] Wang D, Kang J. The Efficiency of tea polyphenol, extraction and the application prospect. *Journal of Xinjiang University (Natural Science)*

- Edition), 2007, 24(2): 217—221.
- [6] Bernays E A, Cooper D G, Bilgener M, *et al.* Herbivores and plant tannins. *Adv Ecol Res*, 1989, 19: 263—302.
- [7] Appel H M. Phenolics in ecological interaction. *J Chem Ecol*, 1993, 19: 1521—1551.
- [8] Tang Z Y. Bamboo and the nutrition of panda. *Chinese Wildlife*, 1983, (5): 1.
- [9] Butler L G. Relative degree of polymerization of sorghum tannin during seed development and maturation. *Agric Food Chem*, 1982, 30: 1090—1094.
- [10] Muir A D, Gruber M Y, Hinks C F, *et al.* Effect of condensed tannins in the diets of major crop insects. In: Gross G G ed. *Plant Polyphenols 2. Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. New York: Kluwer Academic Publishers, 1999. 867—881.
- [11] Zhang B L, Liang Y, Tu Y Y. The statistic report of tea polyphenol patents in recent decade in China. *Journal of Tea*, 2007, 33(2): 85—87.
- [12] Mao Y, Wang X L, Yang T. Extraction and measure of tea polyphenol in leaves and branches of *Phyllostachys pubescens*. *Journal of Bamboo Research*, 2000, 19(2): 50—51.
- [13] Zhong W W, Liu Y J, Shi D M. The Research Advance of Staple Food Bamboo for Giant Panda. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(5): 141—145.
- [14] AOAC. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Washington, D. C: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [15] Labiennec M, Gabryelak T, Falcoini G. Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel. *Unio tumidus Mutat Res*, 2003, 539: 19—28.
- [16] Sakihama Y, Cohen MF, Gace SC, *et al.* Plant phenolic antioxidant and pro-oxidant activities. Phenolics-induced-oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 2002, 177: 67—80.
- [17] Dudt J F, Shure D J. The influence of light and nutrients on foliar phenolics and insect herbivory. *Ecology*, 1994, 75: 86—98.
- [18] Cheng C L, Liu S, Liao R S, *et al.* Concentration and distribution of phenolic compounds in *Populus euphratica* in Ejina oasis and their correlation with soil water contents. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 69—74.
- [19] Caldwell M M, Robberecht R and Flint S D. Internal filters; prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiology Plant*, 1983, 58: 445—450.
- [20] Rozema J, Chardonnetts A, Tosserams M, *et al.* Leaf thickness and UV-B absorbing pigments of plants in relation to an elevational gradient along the Blue Mountains, Jamaica. *Plant Ecol*, 1997, 128: 151—159.
- [21] Booker F L, Miller J E. Phenyl propanoid metabolism and phenolic composition of soybean [*Glycinemax*(L.) Merr.] leaves following exposure to ozone. *J Exp Bot*, 1998, 49: 1191—1202.
- [22] Zhou C Q, Hu J D. Giant pandas's food habits and feeding behaviour in Mabian defending natural reserve. *Journal of Sichuan Teachers College (Natural Science)*, 1997, 18(4): 274—277.
- [23] Hu J C, *et al.* *Progresses in study of giant panda biology*. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1990.

参考文献:

- [4] 宋立江, 狄莹, 石碧. 植物多酚研究与利用的意义及发展趋势. *化学进展*, 2000, 12(2): 161—170.
- [5] 王栋, 康健. 茶多酚的功效、提取和应用前景. *新疆大学学报(自然科学版)*, 2007, 24(2): 217—221.
- [8] 唐稚英. 竹子与大熊猫的营养. *野生动物*, 1983, (5): 1.
- [11] 张碧莲, 梁燕, 屠幼英, 等. 近 10 年我国茶多酚发明专利的统计报告. *茶叶*, 2007, 33(2): 85—87.
- [12] 毛燕, 王学利, 杨彤. 毛竹叶、枝茶多酚提取及含量的测定. *竹子研究汇刊*, 2000, 19(2): 50—51.
- [13] 钟伟伟, 刘益军, 史东梅. 大熊猫主食竹研究进展. *中国农学通报*, 2006, 22(5): 141—145.
- [18] 程春龙, 刘松, 廖容苏, 等. 额济纳绿洲胡杨酚类物质含量和分布及其与土壤水分的关系. *生态学报*, 2008, 28(1): 69—74.
- [22] 周材权, 胡锦鑫, 袁重桂, 等. 马边山大风顶自然保护区大熊猫的食性与采食行为. *四川师范大学学报(自然科学版)*, 1997, 18(4): 274—277.
- [23] 胡锦鑫, 等. *大熊猫生物学研究进展*. 成都: 四川科学技术出版社, 1990.