

光照对蛇足石杉某些生理生化指标的影响

韩邦兴^{1,2}, 陈乃富¹, 代剑平², 姚勇³, 朱大元⁴, 陈钧^{2,①}

(1. 植物细胞工程安徽省工程技术研究中心, 安徽 六安 237012; 2. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013;
3. 宣城市金泉生态农业有限责任公司, 安徽 宣城 242000; 4. 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室, 上海 201023)

Effects of illumination on some physiological-biochemical indexes of *Huperzia serrata* HAN Bang-xing^{1,2}, CHEN Nai-fu¹, DAI Jian-ping², YAO Yong³, ZHU Da-yuan⁴, CHEN Jun^{2,①} (1. Engineering Technology Research Center of Plant Cell Engineering, Anhui Province, Lu'an 237012, China; 2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 3. Xuancheng Jinqian Ecological Agriculture Co. Ltd., Xuancheng 242000, China; 4. State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Medicines, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201023, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(3): 88-90

Abstract: The contents of soluble sugar and soluble protein as well as PPO, POD and CAT activities in above-ground part of *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev. under different illumination conditions were analyzed. The results show that with the treating time (18 d) prolonging, these indexes appear different changing trends under different illumination conditions, and most of them are higher than those before treating. Soluble sugar content, soluble protein content, PPO activity and POD activity of *H. serrata* in 2 400 and 3 600 lx groups are obviously higher than that in 1 200 lx group, but CAT activity among the three illumination groups has no significant difference. It is concluded that the relative high illumination has a certain influence on some physiological-biochemical indexes of *H. serrata*, low illumination (1 200 lx) is relatively suitable for *H. serrata* growth.

关键词: 蛇足石杉; 光照度; 生理生化指标

Key words: *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev.; illumination; physiological-biochemical index

中图分类号: Q948.112⁺.1; S567.23⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)03-0088-03

蛇足石杉(*Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev.)是石杉科(Huperziaceae)石杉属(*Huperzia* Bernh.)植物,其含有的药用成分石杉碱甲是一种高效胆碱酯酶抑制剂,可用于治疗老年人记忆减退、早老性痴呆症及重症肌无力症等^[1],目前,已有学者将石杉碱甲开发成治疗早老性痴呆症的一类新药。由于石杉碱甲的合成步骤繁琐、成本高,因此,主要从石杉科少数几种植物中提取获得石杉碱甲^[2-3]。由于过度采挖,加之繁殖困难、生长缓慢及对环境要求苛刻等原因,蛇足石杉已濒临灭绝,资源极为有限^[4]。因此,开展蛇足石杉资源学及其基础研究迫在眉睫。为了解蛇足石杉生长过程中对光照的需求,作者对不同光照条件下蛇足石杉部分生理生化指标的变化进行了研究,以期对蛇足石杉的规范化种植(GAP)及建立优质的蛇足石杉药材生产基地提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

蛇足石杉引自安徽省宣城市溪口镇,由陈钧教授鉴定。

1.2 方法

将蛇足石杉随机分成3组并置于不同光照度的MGC-300H人工气候箱(上海一恒科技有限公司)中,参照文献[5]及根据野外考察数据,将光照度分别设置为1 200、2 400和3 600 lx,光照时间10 h·d⁻¹,昼夜温度分别为22℃和14℃,空气相对湿度90%。

分别于处理前及处理的第5天、第9天、第14天和第18天取蛇足石杉地上部分,洗净泥土后剪碎,每处理组平行取样5次。用硫酸蒽酮比色法^{[6]202}测定可溶性糖含量;用考马斯亮蓝显色法^{[6]190}测定可溶性蛋白质含量;用邻苯二酚自氧化法^{[6]280}测定多酚氧化酶(PPO)活性,以1 min内A₄₂₀变化0.1为1个酶活性单位;用愈创木酚法^{[6]167}测定过氧化物酶(POD)活性,以1 min内A₄₇₀变化0.1为1个酶活性单位;用KMnO₄滴定法^{[6]170}测定过氧化氢酶(CAT)活性,以1 g鲜样1 min内分解H₂O₂的质量(mg)为1个酶活性单位。

1.3 数据处理

以蛇足石杉地上部分的可溶性糖和可溶性蛋白质含量以及PPO、POD和CAT活性为参考序列,采用SPSS 13.0软

收稿日期: 2009-02-20

基金项目: 中国科学院知识创新工程重大项目(KSCXL-SW-11-6)

作者简介: 韩邦兴(1978-),男,安徽安庆人,博士研究生,讲师,主要从事中药及中药资源学研究。

①通信作者 E-mail: syxchenjun@126.com

件对数据进行均值化和差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 不同光照度对蛇足石杉地上部分可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响

可溶性糖与光合速率、植物抗逆性及植物生长发育过程关系密切,在一定程度上反映了植物的碳素代谢水平与营养状况,并可从侧面反映植物的生存环境^[7];而植物体内的可溶性蛋白质含量是了解植物体代谢水平的重要指标之一,在逆境条件下,植物体内的可溶性蛋白质含量水平会发生变化^[7]。不同光照度条件下蛇足石杉地上部分可溶性糖和可

溶性蛋白质含量均随处理时间呈现一定的变化趋势,结果见表1。

由表1可以看出,在处理的18 d内,可溶性糖含量呈先升高后降低再升高的变化趋势。没有经过光照处理的蛇足石杉地上部分可溶性糖含量为4.7%;在1 200 lx光照条件下,可溶性糖含量为2.7%~5.3%;在2 400 lx光照条件下,可溶性糖含量为4.4%~7.3%;在3 600 lx光照条件下,可溶性糖含量最高,为4.4%~9.7%。综合分析表明,1 200 lx光照条件下蛇足石杉的可溶性糖含量变化不明显;2 400和3 600 lx光照条件下可溶性糖含量明显提高,且与起始含量差异显著。

表1 不同光照条件下蛇足石杉地上部分可溶性糖和可溶性蛋白质含量的变化¹⁾

Table 1 Content change of soluble sugar and soluble protein in above-ground part of *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev. under different illumination conditions¹⁾

光照度/lx Illumination intensity	不同时间的可溶性糖含量/% Soluble sugar content at different times					不同时间的可溶性蛋白含量/mg·g ⁻¹ Soluble protein content at different times				
	0 d	5 d	9 d	14 d	18 d	0 d	5 d	9 d	14 d	18 d
1 200	4.7	5.3a	3.6a	2.7a	3.2a	8.9	14.2a	18.0a	16.6a	13.8a
2 400	4.7	5.8a	4.7b	7.3b	4.4b	8.9	13.4a	15.6a	24.4b	15.1a
3 600	4.7	8.3b	4.4b	5.6c	9.7c	8.9	13.8a	30.1b	22.8b	22.3b

¹⁾ 同列中不同的字母表示在5%水平上差异显著 The different letters in the same column indicate the significant difference at 5% level.

经过不同光照处理,蛇足石杉的可溶性蛋白质含量均高于处理前(8.9 mg·g⁻¹)。不同光照条件下,在处理的18 d内,可溶性蛋白质含量均呈先逐渐升高而后逐渐下降的变化趋势,不同处理组可溶性蛋白质含量峰值出现的时间略有不同(表1)。1 200和3 600 lx光照条件下可溶性蛋白质含量峰值出现在实验的第9天,分别为18.0和30.1 mg·g⁻¹;2 400 lx光照条件下可溶性蛋白质含量的峰值(24.4 mg·g⁻¹)出现在第14天。在2 400和3 600 lx光照条件下,蛇足石杉的可溶性蛋白质含量明显升高,尤其是3 600 lx处理组的可溶性蛋白质含量显著高于1 200 lx处理组,说明2 400和3 600 lx的光照度对蛇足石杉的影响较大。

2.2 不同光照度对蛇足石杉地上部分PPO、POD和CAT活性的影响

植物体内的多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性与逆境条件下植物的抗逆性及防御体系密切相关^[8-9],是逆境胁迫条件下的重要生理指标。不同光照条件下,在处理的18 d内,蛇足石杉地上部分PPO、POD和CAT活性变化状况各不相同,实验结果见表2。

由表2可以看出,在1 200 lx光照条件下,蛇足石杉的PPO活性呈先上升后下降的变化趋势,并在第9天达到峰值(101.9 U·g⁻¹);而在2 400 lx光照条件下,PPO活性则基本呈上升趋势,第18天达到最高(113.5 U·g⁻¹);在3 600 lx光照条件下,PPO活性也呈先上升后下降的变化趋势,但是

变化的幅度小于1 200 lx处理组。

经过不同光照处理后,蛇足石杉地上部分的POD活性均较起始时大幅度升高(表2)。在2 400 lx光照条件下,蛇足

表2 不同光照条件下蛇足石杉地上部分PPO、POD和CAT活性的变化¹⁾

Table 2 Changes of enzyme activities of PPO, POD and CAT in above-ground part of *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trev. under different illumination conditions¹⁾

光照度/lx Illumination intensity	不同时间的酶活性/U·g ⁻¹ Enzyme activity at different times				
	0 d	5 d	9 d	14 d	18 d
PPO活性 PPO activity					
1 200	39.6	61.5a	101.9a	54.6a	48.2a
2 400	39.6	66.4a	73.7b	80.5b	113.5b
3 600	39.6	52.4b	60.4c	75.2b	56.9a
POD活性 POD activity					
1 200	61.8	135.4a	215.6a	209.1a	207.6a
2 400	61.8	185.1a	192.5a	219.3a	261.4b
3 600	61.8	228.3b	148.6b	264.6b	198.3a
CAT活性 CAT activity					
1 200	0.6	3.1a	2.2a	2.3a	1.4a
2 400	0.6	3.0a	2.1a	2.2a	1.5a
3 600	0.6	2.8a	2.2a	2.1a	1.5a

¹⁾ 同列中不同的字母表示在5%水平上差异显著 The different letters in the same column indicate the significant difference at 5% level.

石杉的 POD 活性呈持续上升的趋势;在 3 600 lx 光照条件下,蛇足石杉 POD 活性的变化呈波动状,但明显高于处理前;在 1 200 lx 光照条件下,POD 活性呈先急剧升高再缓慢降低的变化趋势,但变化幅度相对小于 2 400 和 3 600 lx 处理组,对蛇足石杉生长的影响较小。

经过不同光照处理后,蛇足石杉地上部分 CAT 活性均显著高于处理前(表 2),且各处理组的变化趋势基本相同,在处理前期急剧上升,而后逐渐下降;不同光照处理组间 CAT 活性差异不显著。

3 结论和讨论

当植物处于逆境条件(高光强、高温、干旱、盐渍、冷冻及营养元素缺乏)下或衰老状态时,体内都会发生氧化胁迫并由此引发或加剧细胞的膜脂过氧化,使膜系统的结构和功能受到损伤,对植物细胞造成伤害^[8-9]。PPO、POD 和 CAT 是植物体清除活性氧系统中非常重要的末端氧化酶,这些酶活性高则预示着植物体内活性氧大量积累,表明植物正遭受逆境或步入衰老阶段。可溶性糖含量可在一定程度上反映植物碳素代谢水平与营养状况,而可溶性蛋白质含量则是了解植物体代谢水平的一个重要指标^[9-10],在逆境条件下,植物体内的可溶性蛋白质含量水平将发生变化,可溶性糖含量也会增加。因此,可溶性糖和可溶性蛋白质含量可间接反映植物的生存环境。本研究结果表明,较高的光照度破坏了蛇足石杉体内 PPO、POD 和 CAT 活性的平衡,同时导致蛇足石杉体内可溶性糖和可溶性蛋白含量发生大幅度变化,因此,较低的光照度(1 200 lx)比较适合蛇足石杉的生长,这与相关文献^[5,11]报道的蛇足石杉喜阴的结果基本一致。

由于本实验是在人工气候箱内进行,环境条件相对封闭,实验结果能否准确反映蛇足石杉对光照的响应,还有待进一步的田间实验研究。

参考文献:

- [1] Ma X Q, Tan C H, Zhu D Y, et al. A survey of potential huperzine A natural resources in China: the Huperziaceae [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 104(1/2): 54-67.
- [2] Ma X Q, Tan C H, Zhu D Y, et al. Is there a better source of huperzine A than *Huperzia serrata*? Huperzine A content of Huperziaceae species in China [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(5): 1393-1398.
- [3] Xiao X Q, Yang J W, Tan X C. Huperzine A protects rat pheochromocytoma cells against hydrogen peroxide-induced injury [J]. Neuroscience Letters, 1999, 275(2): 73-76.
- [4] 吴 荭, 庄 平, 冯正波, 等. 中国蛇足石杉资源调查与评估 [J]. 自然资源学报, 2005, 20(1): 59-67.
- [5] 王志安, 徐建中, 俞旭平, 等. 生态环境因子对千层塔生长发育的影响研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1814-1816.
- [6] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [7] 童方平, 方 伟, 马履一, 等. 湿地松优良半同胞家系蛋白质及糖类对水分胁迫的生理响应 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(12): 459-464.
- [8] Price A H, Hendry G A F. Drought-induced oxidative stress in wheat [J]. Biochemical Society Transactions, 1989, 17: 493-494.
- [9] 李 娜, 陈 钧, 承 曦, 等. 微生物对蛇足石杉扦插生根及若干生理生化指标的影响 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(8): 873-877.
- [10] 彭方仁, 杨玉珍, 朱振贤. 干旱胁迫对不同种源香椿叶片膜脂过氧化和保护酶系统的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(2): 44-47.
- [11] 石 玮, 罗建平, 赵晓丹. 影响九华山千层塔石杉碱甲含量的主要环境因子分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 58-62.

欢迎订阅 2010 年《特产研究》

《特产研究》(原名《特产科学实验》)是由中华人民共和国农业部主管、中国农业科学院特产研究所和中国农学会特产学会联合主办的国家级农牧特产业学术期刊,为中国科技核心期刊、RCCSE 中国核心学术期刊、《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊。1962 年创刊。国内统一连续出版物号:CN-1154/S。主要报道野生经济动、植物的引种驯化、遗传育种、饲养繁殖、栽培管理、病虫害防治、产品加工、贮藏保鲜等方面的最新科研成果;指导前沿研究,科学与实践,发现与探讨;介绍农牧特产业的新技术、新方法、新经验等。主要栏目有研究报告、应用技术、测试分析、专论综述等。适合各级从事特产科技工作的院校师生、科研人员、生产技术人员及广大农村种植业和养殖业专业户参阅。

季刊,大 16 开本,80 页,公开发行。每期定价 5.00 元,全年价 20.00 元(含邮费)。全国各地邮局(所)均可订阅,邮发代号 12-182,也可随时通过邮局汇款至编辑部订阅。编辑部地址:吉林省吉林市左家镇鹿鸣大街 15 号(邮编 132109);单位:中国农业科学院特产研究所《特产研究》编辑部;联系人:包秀芳;电话:0432-6513069(传真),0432-6513067(发行);E-mail:tcybjb@126.com。