

NaCl 胁迫过程中喷施 ALA 对菘蓝幼苗生长及主要活性成分含量的影响

唐晓清^①, 吕婷婷, 赵雪玲, 金美惠, 肖云华, 王康才

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 以来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 幼苗为实验材料, 对 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下喷施 50.0、25.0、16.7、12.5 和 0.0 mg · L⁻¹ 5-氨基乙酰丙酸 (ALA) 后幼苗部分生长指标、叶片中靛蓝和靛玉红含量以及根中表告依春含量的变化进行了研究。结果表明: 在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 单一胁迫条件下, 来源于安徽亳州的幼苗单株叶鲜质量和叶片中靛蓝和靛玉红含量均低于对照, 单株根鲜质量、根冠比以及根中表告依春含量均高于对照; 来源于山西运城的幼苗单株叶和根鲜质量、叶片中靛玉红含量和根中表告依春含量均低于对照, 根冠比和叶片中靛蓝含量均高于对照。在 NaCl 胁迫过程中喷施 ALA 对菘蓝幼苗生长和有效成分的积累均有不同效应。其中, 喷施 25.0 mg · L⁻¹ ALA 后安徽亳州产幼苗单株叶和根鲜质量均最高且显著高于 NaCl 单一胁迫处理组; 喷施 16.7 mg · L⁻¹ ALA 后山西运城产幼苗单株叶和根鲜质量均较高但与 NaCl 单一胁迫处理组无显著差异。喷施 50.0 mg · L⁻¹ ALA 后安徽亳州产幼苗叶片中靛蓝含量最高 (0.376 mg · g⁻¹), 喷施 25.0 mg · L⁻¹ ALA 后其叶片中靛玉红含量最高 (9.977 mg · g⁻¹), 喷施 16.7 mg · L⁻¹ ALA 后其根中表告依春含量最高 (0.229 mg · g⁻¹), 且均显著高于 NaCl 单一胁迫处理组; 喷施 16.7 mg · L⁻¹ ALA 后山西运城产幼苗叶片中靛蓝含量最高 (0.282 mg · g⁻¹), 喷施 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后其叶片中靛玉红含量和根中表告依春含量均最高 (分别为 4.526 和 0.301 mg · g⁻¹), 且均显著高于 NaCl 单一胁迫处理组。研究结果表明: 喷施适宜浓度 ALA 能够有效减轻 NaCl 胁迫对菘蓝幼苗生长的影响、提高其体内药用活性成分的含量; 总体上看, 产自安徽亳州的菘蓝幼苗的耐盐性较强, 且不同种源适宜的 ALA 浓度也有一定差异。

关键词: 菘蓝; 5-氨基乙酰丙酸 (ALA); NaCl 胁迫; 生长; 主要活性成分

中图分类号: Q945.78; Q946.8; S567.2.048 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2014)04-0055-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2014.04.08

Effect of spraying ALA on growth and main active component content of *Isatis indigotica* seedling during NaCl stress process TANG Xiaqing^①, LYU Tingting, ZHAO Xueling, JIN Meihui, XIAO Yunhua, WANG Kangcai (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, 23(4): 55-61

Abstract: Taking *Isatis indigotica* Fort. seedlings from Bozhou of Anhui and Yuncheng of Shanxi as experimental materials, changes of some growth indexes, contents of indigo and indirubin in leaf and epigoitrin content in root of seedling after spraying 50.0, 25.0, 16.7, 12.5 and 0.0 mg · L⁻¹ 5-aminolevulinic acid (ALA) under 100 mmol · L⁻¹ NaCl stress condition were researched. The results show that under 100 mmol · L⁻¹ NaCl single stress condition, leaf fresh weight per plant and contents of indigo and indirubin in leaf of seedling from Bozhou of Anhui all are lower than those of the control, and root fresh weight per plant, root-shoot ratio and epigoitrin content in root all are higher than those of the control; while, fresh weights of leaf and root per plant, indirubin content in leaf and epigoitrin content in root of seedling from Yuncheng of Shanxi all are lower than those of the control, and both root-shoot ratio and indigo content in leaf are higher than those of the control. During NaCl stress process, there are

收稿日期: 2014-02-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171486)

作者简介: 唐晓清(1970—), 女, 四川威远人, 博士, 副教授, 主要研究方向为药用植物栽培与中药质量控制。

^①通信作者 E-mail: xqtang@njau.edu.cn

different effects of spraying ALA on growth and accumulation of active components of *I. indigotica* seedling. In which, after spraying $25.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, fresh weights of leaf and root per plant of seedling from Bozhou of Anhui are the highest and are significantly higher than those in NaCl single stress treatment group; while after spraying $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, those from Yuncheng of Shanxi are high but with no significant difference from those in NaCl single stress treatment group. Indigo content in leaf of seedling from Bozhou of Anhui is the highest ($0.376 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) after spraying $50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, its indirubin content in leaf and epigoitrin content in root are also the highest (9.977 and $0.229 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively) after spraying 25.0 and $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, respectively, and all of them are significantly higher than those in NaCl single stress treatment group; indigo content in leaf of seedling from Yuncheng of Shanxi is the highest ($0.282 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) after spraying $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, its indirubin content in leaf and epigoitrin content in root are the highest (4.526 and $0.301 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively) after spraying $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA, and all of them are significantly higher than those in NaCl single stress treatment group. It is suggested that spraying ALA with suitable concentration can effectively reduce the effect of NaCl stress on growth of *I. indigotica* seedling and enhance content of medicinal active components *in vivo*. In general, salt tolerance of *I. indigotica* seedling from Bozhou of Anhui is stronger, and the suitable concentration of ALA for different provenances also has a certain difference.

Key words: *Isatis indigotica* Fort.; 5-aminolevulinic acid (ALA); NaCl stress; growth; main active component

5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, ALA)是动植物体内自然存在的一种化合物,一定浓度的ALA对植物生长具有调节作用^[1],有利于提高植物适应逆境(盐胁迫^[2]、干旱胁迫^[3]、冷胁迫^[4]、弱光条件^[5])的能力。

目前,中国盐碱土面积已有 $2 \times 10^7 \text{ hm}^2$,并随现代灌溉技术的发展还将不断扩大;盐害可造成植物吸水能力减少,引起植物生理干旱、细胞离子中毒、光合作用下降、呼吸作用不稳定及蛋白质合成受阻等问题^[6]。由于大多数农作物为耐盐性较弱的淡土植物,因此,提高作物耐盐性及加强盐碱土的生物治理和综合开发是目前农业科学研究的重大课题之一。

菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)为十字花科(Brassicaceae)植物,其叶为常用中药“大青叶”^[7]²⁰、根为常用中药“板蓝根”^[7]¹⁹¹。水分胁迫条件下菘蓝体内的有机酸及生物碱类成分能够发生明显变化^[8-9],而盐胁迫对菘蓝叶内的靛玉红含量也有较大影响^[10],表明逆境胁迫对菘蓝体内的次生物质代谢影响较大。

在弱光条件下,低浓度ALA处理可以提高菘蓝的生物学产量;而在其生物碱积累期,较高浓度的ALA处理可以提高菘蓝的药用成分含量^[11]。吕婷婷等^[12]的研究结果也表明: $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA处理能够有效缓解盐胁迫对菘蓝种子萌发及幼苗抗氧化酶系统的影响、提高植株的抗盐性。为了明确不同浓度ALA处理对耐盐性不同的菘蓝种源幼苗的生长和活

性成分含量的影响,作者以来自安徽亳州(耐盐性较强)和山西运城(耐盐性较弱)的2个菘蓝种源为实验材料,研究了 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl胁迫条件下喷施不同浓度ALA对菘蓝幼苗生长及体内靛蓝、靛玉红和表告依春3个主要活性成分含量的影响,以期为盐逆境条件下菘蓝次生代谢产物的调控提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为来自安徽亳州和山西运城的菘蓝栽培植株,由南京农业大学园艺学院王康才教授鉴定;其中,安徽亳州种源的耐盐性相对较强,山西运城种源的耐盐性相对较弱。

于2013年4月28日在南京农业大学日光温室内进行播种。选取2个菘蓝种源的饱满种子分别播种于直径34 cm、高40 cm的塑料盆中,栽培基质为W(蛭石):W(珍珠岩):W(园土)=2:1:1的混合基质;出苗后进行常规管理并适时间苗。

供试ALA购自苏州益安生物科技有限公司,现配现用;靛蓝标准品(批号110716-201111)、靛玉红标准品(批号110717-200204)和表告依春标准品(批号111753-201304)均购自中国食品药品检定研究院;三氯甲烷为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 NaCl胁迫和ALA处理方法 当幼苗长出4

片真叶时,每盆保留长势一致的幼苗 12 株,于出苗 20 d 后向幼苗根部浇灌 Hoagland 营养液,每盆 1 L,每 10 天浇灌 1 次。于出苗 40 d 后开始 NaCl 胁迫处理,在每盆幼苗的根部均匀浇灌 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理液 1 L(对照浇灌等量清水),每 7 天浇灌 1 次,共浇灌 5 次;在每次浇灌 NaCl 溶液 3 d 后进行 ALA 处理,于傍晚将不同浓度 ALA 溶液喷洒至幼苗全株,以叶片背面滴水为限,喷施前均加入体积分数 0.01% 吐温-20 作为展着剂,每盆喷洒 0.5 L,每 7 天喷洒 1 次,共喷洒 5 次。其中,CK 为 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA;T0 为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA;T1 为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA;T2 为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA;T3 为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA;T4 为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 和 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA。每处理 5 盆,每盆视为 1 个重复。

1.2.2 单株不同器官鲜质量测定 于最后 1 次 ALA 处理 7 d 后采样测定单株叶片和根的鲜质量。每处理随机采集 10 株幼苗,用蒸馏水洗净并吸干表面水分,从基部将叶片和根分开,分别称量单株叶片和根的鲜质量,按公式“根冠比=单株根鲜质量/单株叶片鲜质量”计算根冠比。

1.2.3 主要活性成分含量测定 将根和叶片分别置于 $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 杀青 15 min,然后置于 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下烘干至恒质量,粉碎并过 60 目筛;叶片粉末用于靛蓝和靛玉红含量测定,根粉末用于表告依春含量测定。

1.2.3.1 靛蓝和靛玉红含量测定 采用 HPLC 法^{[7]21}测定叶片中靛蓝和靛玉红含量。色谱条件:岛津 LC-20 高效液相色谱仪,SPD-20 检测器;柱温 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$;流动相为 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=75:25$;检测温度 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$;检测波长 289 nm ;理论塔板数不低于 4 000(以靛玉红计)。

精密称取靛蓝和靛玉红标准品各 100 mg,分别用甲醇溶解后定容至 50 mL,摇匀后用孔径 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤;精密吸取靛蓝和靛玉红标准品溶液各 5、8、10、15 和 $20 \text{ }\mu\text{L}$,按上述色谱分析条件进行 HPLC 分析。以色谱峰面积为纵坐标(Y)、标准品浓度为横坐标(X)进行标准曲线拟合。靛蓝标准曲线的回归方程为 $Y_{\text{靛蓝}}=(2.4 \times 10^6)X+12\,273.0$, $r=0.999\,8$ ($n=3$),线性范围为 $40 \sim 400 \text{ }\mu\text{g}$;靛玉红标准曲线的回归方程为 $Y_{\text{靛玉红}}=(1.9 \times 10^4)X+2\,282.2$, $r=0.999\,1$ ($n=3$),线性范围为 $40 \sim 400 \text{ }\mu\text{g}$ 。

精密称取各处理组叶片粉末 0.5 g ,每个样品称取 3 份,加入 100 mL 三氯甲烷,浸泡 15 h 后用索氏提取器于 $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中回流提取至无色,提取液减压浓缩蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 100 mL,摇匀后用 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤;吸取供试液 $20 \text{ }\mu\text{L}$,按上述色谱分析条件进行 HPLC 分析,并根据标准曲线计算叶片中靛蓝和靛玉红的含量。

1.2.3.2 表告依春含量的测定 采用 HPLC 法^{[7]191}测定根中表告依春的含量。色谱条件:岛津 LC-20 高效液相色谱仪,SPD-20 检测器;柱温 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$;流动相为 $V(\text{甲醇}):V(\text{体积分数 } 0.02\% \text{ 磷酸溶液})=10:90$;检测温度 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$;检测波长 245 nm ;理论塔板数不低于 5 000(以表告依春计)。

精密称定表告依春标准品 0.02 mg ,用甲醇配制成质量浓度 $40 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 表告依春标准品溶液;分别吸取 2、4、8、16 和 $20 \text{ }\mu\text{L}$,按上述色谱条件进行 HPLC 分析。以色谱峰面积为纵坐标(Y)、标准品浓度为横坐标(X)进行标准曲线拟合。表告依春标准曲线的回归方程为 $Y=(6.2 \times 10^6)X+18\,923.0$, $r=0.999\,6$ ($n=3$),线性范围为 $40 \sim 320 \text{ }\mu\text{g}$ 。

精密称定各处理组根粉末 1 g ,每个样品称取 3 份,精密加入 50 mL 蒸馏水并称量总质量;煎煮 2 h 后冷却并再次称量总质量,并用蒸馏水补足减失的质量;摇匀并过滤,滤液于 $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,上清液即为样品溶液。精密吸取各样品溶液 $20 \text{ }\mu\text{L}$,按上述色谱条件进行 HPLC 分析,并根据标准曲线计算根中表告依春的含量。

1.3 数据处理和分析

实验数据采用 EXCEL 2003 和 SPSS 17.0 软件进行数据处理和统计分析,并采用 Duncan's 新复极差法比较不同处理间的差异显著性。

2 结果和分析

2.1 NaCl 胁迫过程中喷施 ALA 对不同种源菘蓝幼苗生长的影响

在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫过程中喷施不同浓度 ALA 对不同种源菘蓝单株叶片和根的鲜质量以及根冠比的影响见表 1。

2.1.1 产自安徽亳州的幼苗生长指标比较 对来源于安徽亳州的菘蓝幼苗部分生长指标的测定结果(表 1)显示: $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 单一胁迫处理对其地上

表1 NaCl胁迫过程中喷施不同浓度5-氨基乙酰丙酸(ALA)对来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝幼苗生长的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
 Table 1 Effect of spraying 5-aminolevulinic acid (ALA) with different concentrations on growth of *Isatis indigotica* Fort. seedlings from Bozhou of Anhui and Yuncheng of Shanxi during process of NaCl stress ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理组 Treatment group	NaCl 浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Conc. of NaCl	ALA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Conc. of ALA	单株叶鲜质量/g Leaf fresh weight per plant	单株根鲜质量/g Root fresh weight per plant	根冠比 Root-shoot ratio
来源于安徽亳州的种源 Provenance from Bozhou of Anhui					
CK	0	0.0	14.07±2.51b	1.82±0.74cde	0.13±0.04c
T0	100	0.0	10.88±1.81bc	2.96±0.91bcd	0.27±0.07ab
T1	100	50.0	11.66±0.64bc	2.87±1.39bcd	0.24±0.09abc
T2	100	25.0	18.39±4.92a	3.85±0.97a	0.22±0.07abc
T3	100	16.7	11.14±2.87bc	3.20±0.74bc	0.30±0.07a
T4	100	12.5	8.59±1.88cd	1.45±0.32de	0.18±0.06bc
来源于山西运城的种源 Provenance from Yuncheng of Shanxi					
CK	0	0.0	18.61±0.74a	2.66±0.87a	0.14±0.05c
T0	100	0.0	11.61±0.91bc	2.56±0.26ab	0.23±0.04ab
T1	100	50.0	10.35±2.15c	1.48±0.39cd	0.15±0.07c
T2	100	25.0	12.31±0.97bc	1.65±0.32bcd	0.14±0.03c
T3	100	16.7	16.67±3.07b	2.52±1.12ab	0.29±0.03a
T4	100	12.5	10.11±1.74c	1.90±0.49bc	0.23±0.04ab

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示在0.05水平上的差异显著性 Different small letters in the same column indicate the significant difference at 0.05 level.

部分生长有明显的抑制作用,其单株叶鲜质量低于对照,而单株根鲜质量则高于对照,根冠比则显著大于对照。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施50.0、25.0和16.7 mg·L⁻¹ ALA后,其单株叶鲜质量均高于NaCl单一胁迫处理组,而喷施12.5 mg·L⁻¹ ALA后其单株叶鲜质量则低于NaCl单一胁迫处理组,且在所有处理组中最低;喷施25.0 mg·L⁻¹ ALA后单株叶鲜质量最大(18.39 g),显著($P<0.05$)高于其他浓度ALA处理组以及对照组。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施25.0 mg·L⁻¹ ALA,幼苗单株根鲜质量最大(3.85 g),均与对照及其他处理组间有显著差异;喷施12.5 mg·L⁻¹ ALA后单株根鲜质量低于对照但差异不显著。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施不同浓度ALA,幼苗根冠比均高于对照,但仅NaCl单一胁迫处理组和16.7 mg·L⁻¹ ALA处理组幼苗的根冠比与对照差异显著,其余处理组与对照组间及各处理组间幼苗根冠比均无显著差异。

2.1.2 产自山西运城的幼苗生长指标比较 对来源于山西运城的菘蓝幼苗部分生长指标的测定结果(表1)显示:100 mmol·L⁻¹ NaCl单一胁迫处理对菘蓝幼苗地上部分和地下部分的生长均具有明显的抑制作用,单株叶和根的鲜质量均低于对照,而根冠比则大于对照。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中,喷施25.0和16.7 mg·L⁻¹ ALA后幼苗单株叶鲜质量均高于NaCl单一胁迫处理组,其中喷施16.7 mg·L⁻¹ ALA

后单株鲜叶质量最大(16.67 g),但与NaCl单一胁迫处理组间无显著差异;而喷施50.0和12.5 mg·L⁻¹ ALA后单株叶鲜质量则低于NaCl单一胁迫处理组。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中,喷施50.0~12.5 mg·L⁻¹ ALA后幼苗单株根鲜质量均低于对照和NaCl单一胁迫处理组,其中,喷施16.7 mg·L⁻¹ ALA后幼苗单株根鲜质量最大(2.52 g),但与对照和NaCl单一胁迫处理组间均无显著差异。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中,喷施16.7和12.5 mg·L⁻¹ ALA后幼苗的根冠比均显著高于对照,但与NaCl单一胁迫处理组无显著差异;而喷施50.0和25.0 mg·L⁻¹ ALA后幼苗的根冠比均与对照无显著差异,但均显著低于其他处理组。

2.1.3 不同种源幼苗生长指标的综合分析 比较结果表明(表1):在100 mmol·L⁻¹ NaCl单一胁迫条件下,来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝幼苗的单株叶鲜质量分别较各自的对照低22.67%和37.61%;而来源于安徽亳州的幼苗的单株根鲜质量则比对照高62.64%,来源于山西运城的幼苗单株根鲜质量则比对照低3.76%,说明产自安徽亳州的菘蓝幼苗的耐盐性高于产自山西运城的幼苗。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施25.0 mg·L⁻¹ ALA后来源于安徽亳州的幼苗单株叶和根的鲜质量均最高,分别比NaCl单一胁迫处理组高69.03%和30.07%;而喷施16.7 mg·L⁻¹ ALA后来源于山西运城的幼苗单株叶和根鲜

质量均较高,分别比NaCl单一胁迫处理组高43.58%和低1.56%。

上述实验结果表明:在NaCl胁迫过程中喷施较低浓度ALA对菘蓝叶片的生长有促进作用并进而促进其根的生长,由此说明适宜浓度的ALA有利于缓解菘蓝幼苗受到的NaCl胁迫,使其叶和根的生长量明显提高。此外,在NaCl胁迫过程中喷施同浓度ALA,来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝幼苗的各项生长指标有明显差异,说明耐盐性不同的菘蓝种源适应的ALA水平也不同。

2.2 NaCl胁迫过程中喷施ALA对不同种源菘蓝幼苗主要活性成分含量的影响

在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施不同浓度ALA对不同种源菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含

量及根中表告依春含量的影响见表2。

2.2.1 对叶片中靛蓝和靛玉红含量的影响 对来源于安徽亳州的菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含量的分析结果(表2)显示:在100 mmol·L⁻¹ NaCl单一胁迫条件下,幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含量均显著低于对照($P<0.05$)。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施50.0~12.5 mg·L⁻¹ ALA,随ALA浓度降低,叶片中靛蓝含量也逐渐降低,其中,喷施50.0 mg·L⁻¹ ALA后叶片中靛蓝含量最高(0.376 mg·g⁻¹),并与各处理组间存在显著差异($P<0.05$);而叶片中靛玉红含量则随ALA浓度降低呈低浓度时增加、高浓度时降低的趋势,其中,喷施25.0 mg·L⁻¹ ALA后叶片中靛玉红含量最高(9.977 mg·g⁻¹),且与各处理组间存在显著差异。

表2 NaCl胁迫过程中喷施不同浓度5-氨基乙酰丙酸(ALA)对来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝幼苗主要活性成分含量的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 2 Effect of spraying 5-aminolevulinic acid (ALA) with different concentrations on main active component content in *Isatis indigotica* Fort. seedlings from Bozhou of Anhui and Yuncheng of Shanxi during process of NaCl stress ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理组 Treatment group	NaCl浓度/mmol·L ⁻¹ Conc. of NaCl	ALA浓度/mg·L ⁻¹ Conc. of ALA	叶中靛蓝 含量/mg·g ⁻¹ Indigo content in leaf	叶中靛玉红 含量/mg·g ⁻¹ Indirubin content in leaf	根中表告依春 含量/mg·g ⁻¹ Epigoitrin content in root
来源于安徽亳州的种源 Provenance from Bozhou of Anhui					
CK	0	0.0	0.453±0.007a	5.847±0.698b	0.169±0.005d
T0	100	0.0	0.249±0.013c	3.181±0.090c	0.181±0.001c
T1	100	50.0	0.376±0.005b	2.125±0.072d	0.181±0.001c
T2	100	25.0	0.209±0.004d	9.977±0.696a	0.224±0.003a
T3	100	16.7	0.183±0.002e	1.099±0.058e	0.229±0.003a
T4	100	12.5	0.172±0.004e	0.838±0.060e	0.187±0.003b
来源于山西运城的种源 Provenance from Yuncheng of Shanxi					
CK	0	0.0	0.212±0.007b	3.008±0.400b	0.526±0.031a
T0	100	0.0	0.246±0.009b	1.947±0.116c	0.248±0.002c
T1	100	50.0	0.270±0.012a	1.701±0.118cd	0.201±0.006d
T2	100	25.0	0.241±0.001b	1.464±0.149d	0.189±0.002d
T3	100	16.7	0.282±0.006a	2.820±0.070b	0.235±0.001c
T4	100	12.5	0.232±0.009b	4.526±0.225a	0.301±0.001b

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示在0.05水平上的差异显著性 Different small letters in the same column indicate the significant difference at 0.05 level.

对来源于山西运城的菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含量的分析结果(表2)显示:在100 mmol·L⁻¹ NaCl单一胁迫条件下,幼苗叶片中靛蓝含量略高于对照、靛玉红含量则显著低于对照。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中喷施50.0~12.5 mg·L⁻¹ ALA后幼苗叶片中靛蓝含量均高于对照,且喷施50.0和16.7 mg·L⁻¹ ALA后叶片中靛蓝含量均显著高于对照及其他处理组,其中喷施16.7 mg·L⁻¹ ALA后叶片中靛蓝含量最高(0.282 mg·g⁻¹);叶片中靛玉红含量则随着ALA浓度降低呈低浓度时降低、高浓度时增加的

趋势,其中喷施12.5 mg·L⁻¹ ALA后叶片中靛玉红含量最高(4.526 mg·g⁻¹),显著高于对照及其他处理组。

比较结果表明:在100 mmol·L⁻¹ NaCl单一胁迫条件下,来源于安徽亳州的菘蓝幼苗叶片中靛蓝含量比对照低45.03%,而来源于山西运城的菘蓝幼苗叶片中靛蓝含量则比对照高16.04%;来源于安徽亳州和山西运城的幼苗叶片中靛玉红含量分别比对照低45.60%和35.27%。在100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫过程中,喷施50.0和25.0 mg·L⁻¹ ALA后来源于安徽

亳州的幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含量均最高,分别比 NaCl 单一胁迫处理组高 51.00% 和 213.64%;而喷施 16.7 和 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后,来源于山西运城的幼苗叶片中靛蓝和靛玉红含量最高,分别比 NaCl 单一胁迫处理组高 14.63% 和 132.46%。

上述结果表明:来源于安徽亳州的菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红的合成和积累对 NaCl 胁迫的敏感性强于来源于山西运城的菘蓝幼苗。在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下喷施适宜浓度的 ALA 能提高菘蓝幼苗叶片内靛蓝和靛玉红含量,其中,喷施较高浓度(25.0 ~ 50.0 mg · L⁻¹) ALA 对来源于安徽亳州的菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红的积累有利,而喷施较低浓度(12.5 ~ 16.7 mg · L⁻¹) ALA 则对来源于山西运城的菘蓝幼苗叶片中靛蓝和靛玉红的积累有利。

2.2.2 对根中表告依春含量的影响 对来源于安徽亳州的菘蓝幼苗根中的表告依春含量的分析结果(表 2)显示:在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 单一胁迫条件下,菘蓝幼苗根中的表告依春含量显著高于对照($P < 0.05$)。在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫过程中喷施 50.0 ~ 16.7 mg · L⁻¹ ALA 后,根中表告依春含量随 ALA 浓度的降低逐渐增加,但在喷施 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后又有所降低;其中,喷施 25.0、16.7 和 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后根中表告依春含量显著高于 NaCl 单一胁迫处理组,且喷施 16.7 mg · L⁻¹ ALA 后根中表告依春含量最高(0.229 mg · g⁻¹)。

对来源于山西运城的菘蓝幼苗根中表告依春含量的分析结果(表 2)显示:在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 单一胁迫条件下,幼苗根中表告依春含量显著低于对照。在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫过程中喷施 50.0 ~ 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后,根中表告依春含量随 ALA 浓度降低呈低浓度时降低、高浓度时增加的趋势,其中喷施 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后根中表告依春含量最高(0.301 mg · g⁻¹),显著高于其他处理组但显著低于对照。

比较结果表明:在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下,来源于安徽亳州的菘蓝幼苗根中表告依春含量比对照高 7.10%,而来源于山西运城的幼苗根中表告依春则比对照低 52.85%;在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫过程中喷施 16.7 和 12.5 mg · L⁻¹ ALA 后,来源于安徽亳州和山西运城的幼苗根中表告依春含量均最高,分别比 NaCl 单一胁迫处理组高 26.52% 和 21.37%。

上述研究结果说明:100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫对

来源于安徽亳州的菘蓝幼苗根中表告依春的积累有利,而对来源于山西运城的菘蓝幼苗根中表告依春的积累则有抑制作用。而在 NaCl 胁迫条件下喷施适宜浓度 ALA 则有利于菘蓝幼苗根中表告依春的积累有利,其中喷施 25.0 和 16.7 mg · L⁻¹ ALA 对来源于安徽亳州的菘蓝幼苗根中表告依春的积累有利,而喷施 12.5 mg · L⁻¹ ALA 则对来源于山西运城的菘蓝幼苗根中表告依春的积累有利。

3 讨论和结论

适宜浓度的 ALA 能够有效缓解植物所遭受的各种逆境胁迫伤害^[13-15];Balestrasse 等^[16]认为:ALA 能够通过提高血红素蛋白的活性有效减轻低温胁迫对大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] 植株的破坏性伤害,而对大豆植株的生长则没有任何不利影响;高年春等^[17]的研究结果表明:外源 ALA 可以缓解盐胁迫对草莓 (*Fragaria × ananassa* Duch.) 叶片 PS II 的伤害,使其能保持较高的光能转化效率和光合能力,使光合产物的积累量较高。本研究中,100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下来源于安徽亳州和山西运城的菘蓝幼苗单株叶片鲜质量均低于对照,来源于山西运城的幼苗单株根鲜质量也低于对照,表明菘蓝幼苗的生长均受到一定程度的抑制;但来源于安徽亳州的幼苗单株根鲜质量则高于对照,表明来源于安徽亳州的菘蓝幼苗耐盐性可能强于来源于山西运城的幼苗。在同水平 NaCl 胁迫过程中喷施不同浓度 ALA 后菘蓝幼苗叶片和根的生长差异较大,其中喷施 16.7 ~ 25.0 mg · L⁻¹ ALA 后来源于安徽亳州的幼苗单株叶和根鲜质量总体上高于对照和 NaCl 单一胁迫处理组,表现出一定的耐盐性;而来源于山西运城的幼苗在喷施 ALA 后单株叶鲜质量均低于对照,其中,仅 25.0 和 16.7 mg · L⁻¹ ALA 处理组单株叶鲜质量高于 NaCl 单一胁迫处理组,说明适宜浓度 ALA 能在一定程度上缓解 NaCl 胁迫对山西运城菘蓝幼苗的伤害。综合比较结果显示:产自山西运城的菘蓝幼苗的耐盐性明显低于产自安徽亳州的菘蓝幼苗。

菘蓝是重要的药用植物,因此在栽培生产过程中不仅要关注其药材产量还要注重其体内主要活性成分的积累量。菘蓝叶片所含的靛玉红及其根中所含的表告依春是其重要的次生代谢产物,分别是中药大青叶和板蓝根的质量控制指标^{[7]21,191},其含量直接关

系到临床药效。因此,在菘蓝生长过程中应该采取适宜的栽培管理措施,促进菘蓝产量的增加以及药用有效成分含量的提高,提升其药材产量和质量。由药材质量控制指标可见:大青叶中靛玉红含量应不低于 0.02% (即 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^{[7]21},板蓝根中的表告依春含量应不低于 0.02% (即 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^{[7]191}。本研究结果显示:在正常栽培(对照)条件下,供试 2 个产地菘蓝幼苗叶片中靛玉红含量均显著高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,但来源于安徽亳州的幼苗根中的表告依春含量低于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,来源于山西运城的幼苗根中表告依春含量则达到 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;而在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫条件下喷施适宜浓度 ALA 处理后,2 个产地幼苗叶片中的靛玉红含量和根中的表告依春含量均高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其中喷施 $16.7 \sim 25.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA 后产自安徽亳州的菘蓝幼苗叶片中靛玉红含量和根中表告依春含量均较高,而喷施较低浓度 ($12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) ALA 则对产自山西运城的菘蓝幼苗体内靛玉红和表告依春的积累有利。

研究结果^[18]表明:适宜浓度 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) ALA 处理可以显著提高 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫条件下半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Tenore ex Breit.] 幼苗的耐盐能力及其主要药用成分(总生物碱)的含量。本研究结果显示:喷施适宜浓度 ALA 可以有效减轻 NaCl 胁迫对菘蓝幼苗的伤害,并能促进其体内靛蓝、靛玉红及表告依春等生物碱类成分的积累。因此,为充分利用盐碱土资源,可在盐渍化土壤中种植菘蓝;为减轻盐渍化土壤对菘蓝生长的影响,可喷施适宜浓度 ALA,以达到促进植株生长、增加药用活性成分含量的双重目的。

参考文献:

- [1] 汪牧耘,李雨晴,朱毅斌,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对菘蓝苗期生长及有效成分含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(2): 47-51.
- [2] NAEEM M S, WARUSAWITHARANA H, LIU H B, et al. 5-aminolevulinic acid alleviates the salinity-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the ultrastructural study of chloroplast [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 57: 84-92.
- [3] 张春平,何平,袁凤刚,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下甘草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1603-1610.
- [4] KORKMAZ A, KORKMAZ Y, DEMIRKIRAN A R. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 67: 495-501.
- [5] 汪良驹,姜卫兵,黄保健. 5-氨基乙酰丙酸对弱光下甜瓜幼苗光合作用和抗冷性的促进效应[J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 321-326.
- [6] 曾洪学,王俊. 盐害生理与植物抗盐性[J]. 生物学通报, 2005, 40(9): 1-3.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [8] 陈暄,周家乐,唐晓清,等. 水分胁迫条件下不同栽培居群菘蓝中 4 种有机酸的变化[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3195-3198.
- [9] 唐晓清,王康才,温建云. 根部淹水对菘蓝活性成分的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(5): 832-836.
- [10] 段飞. 逆境胁迫对菘蓝有效成分和耐逆基因的影响[D]. 西安: 陕西师范大学生命科学院, 2006: 29.
- [11] 唐晓清,王康才,肖云华,等. 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对遮光环境下菘蓝的生长、叶片气孔气体参数和生物碱含量的影响[J]. 生态学报, 2013, 32(5): 1155-1160.
- [12] 吕婷婷,肖云华,吴群,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下菘蓝种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2013, 33(10): 2037-2042.
- [13] 赵艳艳,胡晓辉,邹志荣,等. 不同浓度 5-氨基乙酰丙酸(ALA)浸种对 NaCl 胁迫下番茄种子发芽率及芽苗生长的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(1): 62-70.
- [14] 徐刚,刘涛,高文瑞,等. ALA 对低温胁迫下辣椒植株生长及光合特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(3): 612-616.
- [15] LI D M, ZHANG J, SUN W J, et al. 5-aminolevulinic acid pretreatment mitigates drought stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 130(4): 820-828.
- [16] BALESTRASSE K B, TOMARO M L, BATLLE A, et al. The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(17/18): 2038-2045.
- [17] 高年春,孙永平,张琼,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对 NaCl 胁迫下草莓植株光合作用的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(6): 1329-1333.
- [18] 梁琴,谢英赞,王朝英,等. 外源 ALA 对半夏幼苗耐盐性及其总生物碱含量的影响[J]. 广东农业科学, 2013, 40(15): 31-35.

(责任编辑: 佟金凤)